

UNIVERSITE DE LILLE

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année de soutenance : 2020

N°:

THESE POUR LE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 12 FÉVRIER 2020

Par Aryaman KHODAVEISI MOTLAGH

Né le 8 septembre 1995 à Téhéran – Iran

Cellules souches d'origine dentaire et ingénierie tissulaire : peut-on recréer un organe dentaire ?

JURY

Président : Pr Thomas COLARD

Asseseurs : Dr Jérôme VANDOMME

Dr Cécile OLEJNIK

Dr William PACQUET

Président de l'Université	:	Pr. J-C. CAMART
Directeur Général des Services de l'Université	:	P-M. ROBERT
Doyen	:	E. BOCQUET
Vice-Doyens	:	A. de BROUCKER
Responsable des Services	:	S. NEDELEC
Responsable de la Scolarité	:	M. DROPSIT

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'U.F.R.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES :

P. BEHIN	Prothèses
T. COLARD	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
E. DELCOURT-DEBRUYNE	Professeur Emérite Parodontologie
C. DELFOSSE	Responsable du Département d' Odontologie Pédiatrique
E. DEVEAUX	Dentisterie Restauratrice Endodontie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

K. AGOSSA	Parodontologie
T. BECAVIN	Dentisterie Restauratrice Endodontie
A. BLAIZOT	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.
P. BOITELLE	Prothèses
F. BOSCHIN	Responsable du Département de Parodontologie
E. BOCQUET	Responsable du Département d' Orthopédi Dento-Faciale Doyen de la Faculté de Chirurgie Dentaire
C. CATTEAU	Responsable du Département de Pré ention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale
A. de BROUCKER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
M. DEHURTEVENT	Prothèses
T. DELCAMBRE	Prothèses
F. DESCAMP	Prothèses
A. GAMBIEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
F. GRAUX	Prothèses
P. HILDELBERT	Responsable du Département de Dentisterie Restauratrice Endodontie
C. LEFEVRE	Prothèses
J.L. LEGER	Orthopédie Dento-Faciale
M. LINEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
G. MAYER	Prothèses
L. NAWROCKI	Responsable du Département de Chirurgie Orale Chef du Service d'Odontologie A. Caumartin - CHRU Lille
C. OLEJNIK	Responsable du Département de Biologie Orale
P. ROCHER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
L. ROBBERECHT	Dentisterie Restauratrice Endodontie
M. SAVIGNAT	Responsable du Département des Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomater aux
T. TRENTESAUX	Odontologie Pédiatrique
J. VANDOMME	Responsable du Département de Prothèses

Réglementation de présentation du mémoire de Thèse

Par délibération en date du 29 octobre 1998, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l'Université de Lille 2 a décidé que les opinions émises dans le contenu et les dédicaces des mémoires soutenus devant jury doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'ainsi aucune approbation, ni improbation ne leur est donnée.

Aux membres du jury...

Monsieur le Professeur Thomas COLARD

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

Section Réhabilitation Orale

Département Sciences Anatomiques

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur au Muséum National d'Histoire Naturelle en Anthropologie
Biologique

Assesseur à la Recherche

Quand je vous ai demandé si vous vouliez bien présider le jury de ma thèse vous avez accepté sans hésiter et pour cela je vous en suis très reconnaissant. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma grande estime pour votre rigueur, votre écoute et votre bienveillance.

Monsieur le Docteur Jérôme VANDOMME

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

*Section Réhabilitation Orale
Département Prothèses*

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur en Biologie de l'Université de Lille 2
Master II Biologique Santé
Master I des Sciences Biologiques et Médicales

Responsable du Département de Prothèses
Assesseur aux Nouvelles Technologies

Je tiens à vous remercier énormément de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Vous avez su tout au long de ma formation théorique, pratique et clinique comment me transmettre vos connaissances et votre expérience par vos précieux conseils.

Merci encore pour votre implication, disponibilité et votre sympathie, j'espère que ce travail sera à la hauteur de vos espérances.

Madame le Docteur Cécile OLEJNIK

Maitre de Conférences de Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

*Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale
Département Biologie Orale*

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur en Odontologie de l'Université de Lille 2
Responsable du Département de Biologie Orale
Assesseur PACES

*Je suis très honoré que vous ayez accepté de siéger dans ce jury.
Vos qualités d'enseignante ne sont plus à démontrer et votre gentillesse,
bienveillance et bonne humeur auront marqué mes études.
Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et mon profond
respect.*

Monsieur le Docteur William PACQUET
Assistant Hospitalo-Universitaire des CSERD

Section Réhabilitation Orale
Département Sciences Anatomiques

Docteur en Chirurgie Dentaire

*C'est sans hésitation et avec enthousiasme que vous avez accepté de siéger dans
mon jury et je vous en suis très reconnaissant.*
*Vous m'avez beaucoup aidé et appris lorsque j'ai eu la chance de suivre avec vous
des cas de prothèses en clinique et je garde de très bons souvenirs de ces
moments.*
Avec mes remerciements, veuillez recevoir l'expression de toute ma gratitude.

A mes proches...

A tous mes enseignants de la primaire à l'université : les plus grandes leçons que j'ai apprises ne viennent pas de livres mais du travail de tous les enseignants que j'ai eu la chance de croiser durant mon parcours. Je tenais à vous remercier tous pour votre engagement à mes côtés, votre enseignement et votre soutien tout au long de mes études. On doit tous quelque chose à un professeur, alors je vous dis un grand merci.

Table des matières

1	Introduction	14
2	Les cellules souches	15
2.1	Définition	15
2.2	Origine des cellules souches	16
2.2.1	Cellules souches embryonnaires (ESC)	16
2.2.2	Cellules souches fœtales	16
2.2.3	Cellules souches amniotiques	16
2.2.4	Cellules souches adultes ou somatiques	17
2.3	Classification des cellules souches	18
2.3.1	Cellules souches totipotentes	19
2.3.2	Cellules souches pluripotente	19
2.3.3	Cellules souches multipotentes	20
2.3.4	Cellules souches unipotentes	20
2.3.5	Cellules souches pluripotentes induites (iPSC)	20
2.4	Cellules souches d'origine dentaire et péri-dentaire	21
2.4.1	Cellules souches pulpaire (DPSC)	22
2.4.2	Cellules souches des dents lactéales (SHED)	22
2.4.3	Cellules souches de la papille apicale (SCAP)	24
2.4.4	Cellules souches du follicule dentaire (DFSC)	25
2.4.5	Cellules souches du ligament parodontal (PDLSC)	25
2.4.6	Cellules souches mésenchymateuses de l'os alvéolaire (ABMSC)	26
2.4.7	Cellules progénitrices du germe dentaire (TGSC)	26
2.4.8	Cellules souches mésenchymateuses gingivales (GMSC)	27
2.5	Exemple d'isolement des DPSCs d'une dent	27
2.5.1	Prélèvement et extraction pulpaire	27
2.5.2	Isolement	29
2.5.3	Amplification	32
2.5.4	Conservation	34
2.6	Réglementation en vigueur	35
3	Ingénierie tissulaire	38
3.1	Définition	38
3.2	Les différents types de scaffolds pour la régénération dentaire	39
3.2.1	Les <i>scaffolds</i> en polymères biologiques	40
3.2.2	Les <i>scaffolds</i> synthétiques	45
3.3	Les facteurs de croissances	48
3.3.1	PDGF (Platelet Derived Growth Factor)	49
3.3.2	BMP (Bone morphogenetic proteins)	50
3.3.3	TGF (Transforming Growth Factors)	51
3.3.4	IGF (Insulin-like Growth Factor)	52
4	Recréer une dent : techniques et stratégies	53
4.1	Résumé de l'embryologie de l'organe dentaire	53
4.2	Régénération d'une dent complète	55
4.2.1	Utilisation de <i>scaffolds</i> biodégradables	56
4.2.2	Utilisation de la méthode d'agrégation cellulaire	58
4.2.3	Récapitulatif des études importantes de régénération dentaire	60
4.2.4	Limites et obstacles	62
5	Conclusion	64
	Références bibliographiques	66

1 Introduction

Nous utilisons nos dents tous les jours et comptons sur elles pour la mastication ainsi que pour la communication verbale et non verbale. Cependant, malgré des moyens de contrôle de plaque toujours plus performants, la perte de dents provoquée par les maladies dentaires telles que la parodontite et les caries reste très répandue dans nos pays industrialisés [1].

La dent est composée de trois types de tissus durs hautement minéralisés : l'émail, la dentine et le cément. Ces tissus matures sont générés par les interactions séquentielles et réciproques entre l'épithélium oral et le tissu mésenchymateux sous-jacent dérivé de la crête neurale crânienne. Les dents permanentes adultes perdues ne repousseront pas. Ainsi, pour réparer ou remplacer les dents, les traitements actuels se concentrent principalement sur des solutions prothétiques. Ceux-ci comprennent les prothèses dentaires amovibles et fixées composées de matériaux biocompatibles. La prothèse amovible en particulier présente plusieurs inconvénients, tels que gêne, lésions des tissus environnants et stabilisation inadéquate à long terme [2]. En conséquence, il est souhaitable de développer une nouvelle approche biologique pour traiter plus efficacement ce problème.

Notre but dans cette thèse va être de voir s'il est possible, d'après les différentes études disponibles actuellement, de recréer un organe dentaire fonctionnel à partir de cellules souches d'origine dentaire et péri-dentaire. Pour cela nous allons voir quels sont les différents types de cellules souches que nous pouvons trouver en bouche et comment il est possible de les isoler. Nous définirons par la suite ce qu'est l'ingénierie tissulaire et en quoi, couplée avec ces cellules souches, il est possible de recréer des tissus dentaires.

Nous allons donc dresser une synthèse des travaux et avancées récentes en matière de régénération dentaire, des approches en ingénierie tissulaire et s'attarder sur les travaux les plus significatifs dans ce domaine. Nous décrirons également les limites et obstacles que nous aurons à surmonter pour recréer un organe dentaire complet chez l'homme.

2 Les cellules souches

2.1 Définition

Les cellules souches (SC) sont des cellules biologiques présentes dans presque tous les organismes multicellulaires. Elles peuvent se diviser et se différencier en divers types de cellules spécialisées et peuvent s'auto-renouveler pour produire davantage de cellules souches.

Les cellules souches ont le potentiel de se développer en différents types de cellules dans le corps au début de la vie et de la croissance. Dans de nombreux tissus, elles constituent une sorte de système de réparation interne en produisant des cellules capables de se diviser sans limite pour en reconstituer d'autres.

Les cellules souches se caractérisent par leurs quatre propriétés spéciales d'auto-renouvellement, de nature non spécialisée, de différenciation et de quiescence. Elles sont capables de se diviser et de se renouveler pendant de longues périodes, de se répliquer plusieurs fois ou de proliférer.

Lorsque des cellules souches non spécialisées donnent naissance à des cellules spécialisées, le processus est appelé différenciation. Lors de la différenciation, la cellule passe généralement par plusieurs étapes, devenant de plus en plus spécialisée à chaque étape.

En raison de leurs capacités, les cellules souches peuvent se différencier en plusieurs types de tissus, elles ont donc un potentiel énorme et pourraient donc nous permettre de régénérer des tissus dentaires.

2.2 Origine des cellules souches

2.2.1 Cellules souches embryonnaires (ESC)

Les cellules souches embryonnaires, aussi appelées cellules ESC (Embryonic Stem Cell) sont des cellules pluripotentes obtenues à partir d'un embryon à un stade très précoce de son développement. Mais leur utilisation pour la recherche médicale et les applications thérapeutiques qui en découlent ont fait l'objet de nombreuses controverses, principalement parce que leur isolement nécessite la destruction d'un embryon, soit surnuméraire, soit issu de la fécondation *in vitro*, soit par clonage (par transfert du noyau d'une cellule dans un ovule préalablement vidé du sien) [3].

2.2.2 Cellules souches fœtales

Les cellules souches fœtales sont des cellules multipotentes issues d'un fœtus, provenant d'une interruption volontaire de grossesse. Elles sont déjà en partie déterminées et sont spécifiques du tissu fœtal d'origine, étant capable de générer les cellules du tissu où elles étaient localisées [4].

2.2.3 Cellules souches amniotiques

Les cellules souches amniotiques sont le mélange de cellules souches pouvant être obtenues à partir du liquide amniotique [5,6] et de la membrane amniotique [7].

Les cellules souches amniotiques sont un intermédiaire entre les cellules ESC et les cellules souches adultes, exprimant les marqueurs cellulaires de ces deux types de cellules. Elles peuvent se différencier en un grand nombre de lignées cellulaires (endothéliales, hépatiques, adipocytaires, neurogéniques...), mais aussi en lignées germinales embryonnaires.

Les cellules souches sont généralement extraites du sac amniotique par amniocentèse, ce qui se produit sans nuire aux embryons. L'utilisation des cellules

souches du liquide amniotique est donc généralement considérée comme dépourvue des problèmes éthiques liés à l'utilisation de cellules provenant d'embryons.

2.2.4 Cellules souches adultes ou somatiques

Les cellules souches adultes sont des cellules indifférenciées trouvées dans tout le corps qui se divisent pour reconstituer les cellules mourantes et régénérer les tissus endommagés.

Également appelées cellules souches somatiques, elles peuvent être trouvées chez les enfants ainsi que chez les adultes et ont été identifiées dans la plupart des organes testés : la peau, l'intestin, l'os, la moelle osseuse, le foie, le cœur, le cerveau, la dent, le pancréas, etc.

La recherche sur les cellules souches adultes a été alimentée par leur capacité à se diviser, à s'auto-renouveler et à générer tous les types de cellules de l'organe dont elles proviennent, régénérant potentiellement tout l'organe à partir de quelques cellules.

Contrairement à celles des cellules souches embryonnaires, l'utilisation de cellules souches adultes en recherche et en thérapie n'est pas controversée car l'obtention de ces cellules ne nécessite pas la destruction d'un embryon.

2.3 Classification des cellules souches

Nous allons voir ici le classement des cellules souches du plus haut potentiel de différenciation au plus faible (figure 1).

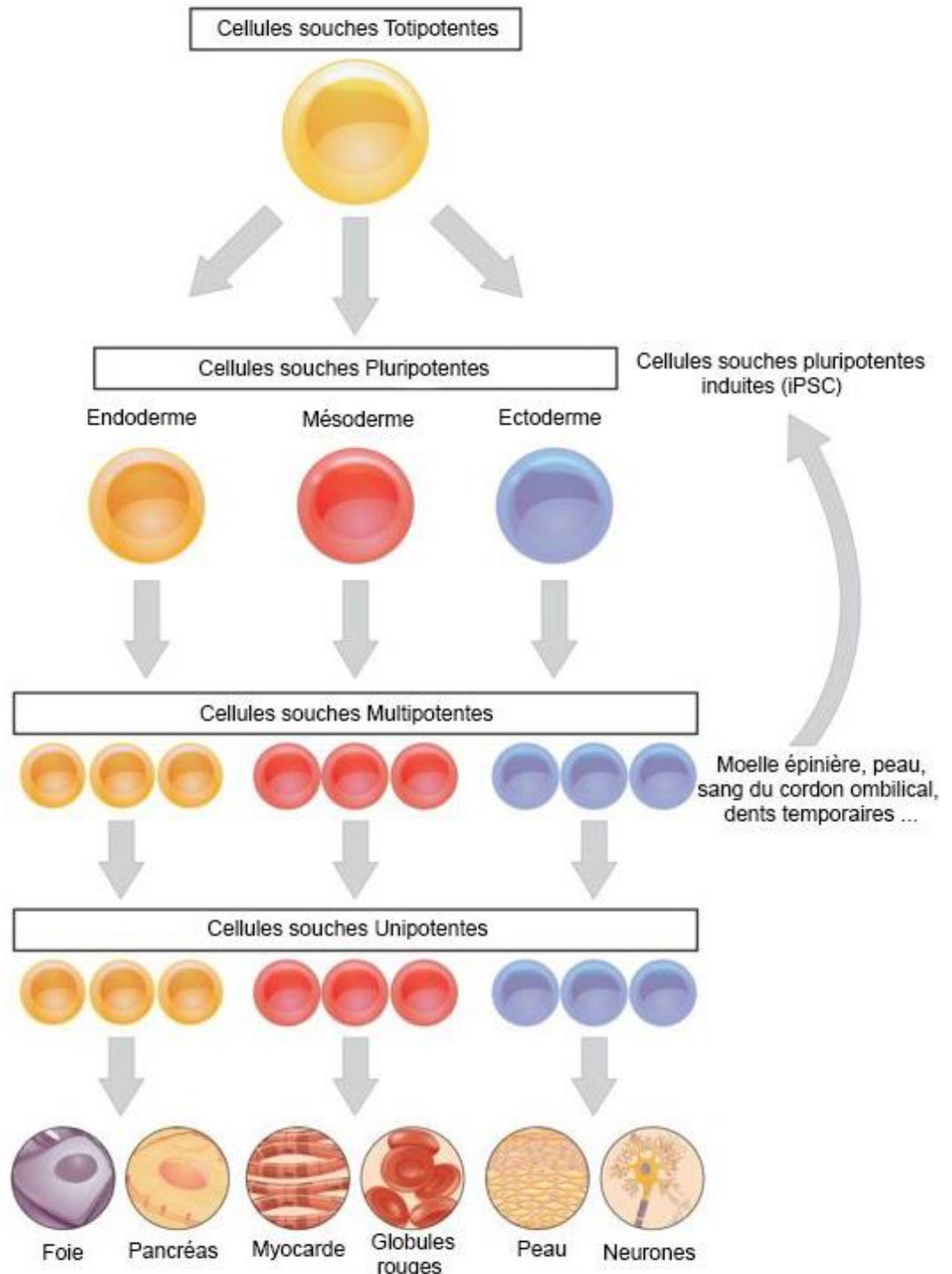


Figure 1: différenciation d'une cellule souche embryonnaire totipotente (adapté du schéma de Betts [8])

2.3.1 Cellules souches totipotentes

Une cellule souche capable de donner naissance à tout type de cellules différenciées dans un organisme particulier est considérée comme totipotente. Cela signifie que ces cellules contiennent le potentiel de différenciation le plus élevé. Le zygote et la spore sont deux exemples de cellules totipotentes. Mais certaines cellules différenciées sont également capables de revenir à l'état de totipotence [9].

Chez l'homme, le zygote est formé après la fécondation de l'ovule par un spermatozoïde. Le zygote est divisé par la mitose, générant des cellules identiques qui deviennent ensuite totipotentes. Le zygote forme la morula, qui est ensuite divisée pour former le blastocyste. Après l'implantation du blastocyste dans l'endomètre, le processus de différenciation commence. Ce stade est appelé stade embryonnaire où sont produites deux masses cellulaires appelées trophoblaste et masse cellulaire interne. Ainsi, le trophoblaste et la masse cellulaire interne se différencient en cellules totipotentes de la morula. Ensuite, la masse cellulaire interne devient pluripotente en se différenciant en trois couches germinales : endoderme, mésoderme ou ectoderme. Ces trois couches germinales donnent naissance à différents types de cellules spécialisées dans le corps en devenant multipotentes.

Par conséquent, les cellules souches totipotentes chez l'homme sont capables de se différencier en n'importe quel type de cellule du corps : il en existe plus de 200 types distincts dans le corps humain.

2.3.2 Cellules souches pluripotentes

Une cellule souche capable de se différencier en l'une des trois couches germinales est considérée comme pluripotente. Les trois couches germinales sont l'endoderme, l'ectoderme et le mésoderme.

Chacune de ces trois couches de germes est ensuite différenciée en différents organes et tissus en devenant multipotentes.

2.3.3 Cellules souches multipotentes

Les cellules multipotentes sont capables de se différencier en plusieurs types de cellules fonctionnellement liées les unes aux autres :

- l'endoderme donne naissance à la muqueuse de l'estomac, au tractus gastro-intestinal et aux poumons ;
- l'ectoderme donne naissance aux tissus épidermiques et au système nerveux ;
- le mésoderme donne naissance à l'os, aux muscles et au sang.

Elles sont donc dites déterminées.

2.3.4 Cellules souches unipotentes

Présente dans les tissus adultes, une cellule souche unipotente possède, en comparaison avec d'autres types de cellules souches, le potentiel de différenciation le plus faible. Cela signifie que la cellule a la capacité de se différencier en un seul type de cellule ou de tissu.

Bien que les cellules souches adultes unipotentes présentes dans les tissus du corps ne donnent naissance qu'à un seul type de cellule, elles ont néanmoins la propriété importante d'auto-renouvellement partagée par toutes les cellules souches. De plus, bien que leur potentiel de différenciation soit limité, les cellules unipotentes ont encore un vaste potentiel thérapeutique pour traiter les blessures et les maladies.

2.3.5 Cellules souches pluripotentes induites (iPSC)

En 2006, des chercheurs de l'Université de Kyoto au Japon ont identifié des conditions qui permettraient à des cellules adultes spécialisées d'être génétiquement « reprogrammées » pour adopter un état semblable à celui d'une cellule souche [10]. Ces cellules adultes, appelées cellules souches pluripotentes induites (iPSC), ont été

reprogrammées en un état semblable à celui des cellules souches embryonnaires en introduisant des gènes importants pour le maintien des propriétés essentielles des cellules souches embryonnaires (ESC). Depuis cette découverte initiale, les chercheurs ont rapidement amélioré les techniques de génération d'iPSC, créant ainsi un nouveau moyen puissant de "dé-différencier" les cellules dont le développement était déterminé.

Les iPSC sont complètement pluripotentes. Les iPSC sont reprogrammées à partir de cellules souches adultes en modifiant génétiquement la cellule afin de se comporter comme des cellules souches embryonnaires. Elles peuvent être utilisées pour régénérer des organes *in vitro*. Certaines sont partiellement pluripotentes, bien qu'elles soient capables de former les trois couches germinales [11].

2.4 Cellules souches d'origine dentaire et péri-dentaire

Les cellules souches peuvent être isolées de plusieurs tissus buccaux tels que la pulpe dentaire, le ligament parodontal, le follicule dentaire, le germe dentaire, la papille apicale, la muqueuse buccale, la gencive et le périoste (figure 2).

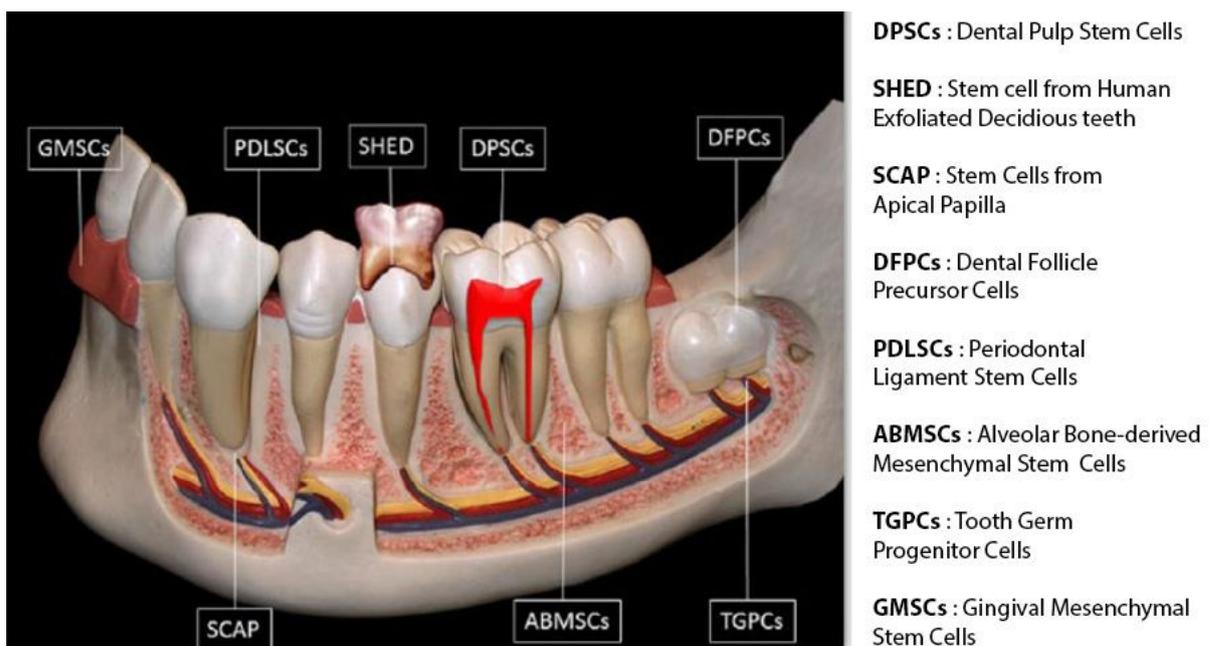


Figure 2: les différents sources de cellules souches d'origine buccale (adapté du schéma de Chalissery [12])

2.4.1 Cellules souches pulpaire (DPSC)

La possibilité que la pulpe dentaire puisse contenir des cellules souches mésenchymateuses a été suggérée pour la première fois en observant le processus de création de néo-odontoblastes lors de lésions dentinaires profondes [13].

Les premières cellules souches isolées de la pulpe dentaire humaine adulte ont été appelées Dental Pulp Stem Cells (DPSC) [14]. Elles ont été isolées à partir de troisièmes molaires permanentes et ont présenté une prolifération élevée.

De plus, la transplantation *in vivo* chez des souris immunodéprimées a démontré la capacité des DPSC à générer du tissu dentaire fonctionnel sous la forme de complexes dentine / pulpe [15]. Une caractérisation plus poussée a révélé que les DPSC étaient également capables de se différencier en d'autres dérivés de cellules mésenchymateuses *in vitro* tels que les odontoblastes, les adipocytes, les chondrocytes et les ostéoblastes [16,17].

Enfin les DPSC peuvent se différencier en neurones fonctionnellement actifs suggérant leur potentiel en tant que thérapie cellulaire pour les troubles neuronaux [18].

2.4.2 Cellules souches des dents lacté les (SHED)

Les cellules souches isolées à partir de la pulpe de dents lactéales (SHED) humaines ont la capacité d'induire la formation osseuse, de générer de la dentine et de se différencier *in vitro* en dérivés de cellules mésenchymateuses non dentaires [19,20].

Contrairement aux cellules souches de la pulpe dentaire (DPSC), les SHED présentent des taux de prolifération plus élevés et une capacité ostéoinductive *in vivo* [21].

Des SHEDensemencées sur des tranches de dents et implantées par voie sous-cutanée chez des souris immunodéficientes se sont différenciées en odontoblastes

fonctionnels capables de générer de la dentine et des cellules endothéliales angiogéniques [22,23].

Des études utilisant des SHED et des cellules endothéliales comme outils dans l'ingénierie tissulaire de la pulpe dentaire *in vivo*, où la pulpe retirée suite à une infection est remplacée par des cellules souches, ont révélé que le tissu formé présente une architecture et une cellularité proches de celles de la pulpe dentaire [20].

Les SHED et d'autres cellules souches dentaires sont dérivées de l'ectomésenchyme de la crête neurale crânienne. Par conséquent, leur développement et leur fonctionnement sembleraient identiques, mais des études ont montré qu'elles diffèrent et ont des profils d'expression génique différents. Les SHED ont des taux de prolifération significativement plus élevés comparés au DPSC et aux cellules souches mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse [21].

La comparaison des profils d'expression génique a mis en évidence 4386 gènes exprimés de manière différentielle entre DPSC et SHED. Une expression plus élevée dans les SHED a été observée pour les gènes qui participent aux voies liées à la prolifération cellulaire et à la formation de matrice extracellulaire, incluant plusieurs facteurs de croissance tels que le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) et le facteur de croissance transformant (TGF)- β [21]. Le TGF- β en particulier est important, car il est libéré après une lésion de la dentine et pourrait donc mobiliser les cellules souches de la pulpe pour les différencier en odontoblastes [24].

Les SHED sont hautement prolifératives et conservent leurs caractéristiques de cellules souches après une culture « prolongée ». Elles pourraient donc être utilisées comme source allogénique générique de cellules souches mésenchymateuses. Cependant, leur utilisation en tant que cellules autologues est actuellement limitée aux enfants qui n'ont pas encore perdu toutes leurs dents temporaires.

De plus en plus de banques de ces cellules se développent pour permettre leur utilisation lorsque l'enfant devient adulte. Des études ont montré que les cellules SHED congelées conservent leurs propriétés après une cryopréservation de 2 ans dans de l'azote liquide [25], mais il convient toutefois de noter que les effets du stockage à long terme (10 ans et plus) n'ont pas encore été évalués. Étant donné que les enfants

perdent naturellement 20 dents temporaires, il existe de nombreuses possibilités pour stocker ces cellules.

2.4.3 Cellules souches de la papille apicale (SCAP)

Une population unique de cellules souches dentaires, appelées cellules souches de la papille apicale (SCAP), est située aux extrémités des racines des dents en croissance. Le tissu papillaire apical n'est présent qu'au cours du développement radiculaire avant que la dent n'entre en éruption dans la cavité buccale [26]. Les SCAP ont la capacité de se différencier en odontoblastes et en adipocytes [27].

Les SCAP expriment les marqueurs de surface mésenchymateux précoces, en particulier CD24, qui est un marqueur unique pour leur population [27,28]. Les cellules SCAP présentent des taux de prolifération *in vitro* plus élevés que ceux de DPSC [27].

En co-transplantant des cellules SCAP (pour former une racine) et des cellules souches du ligament parodontal (PDLSC) (pour former un ligament parodontal) dans des alvéoles dentaires de mini-porcs, Sonomaya et son équipe ont observé que de la dentine et un ligament parodontal ont été formés [27]. Ces résultats suggèrent que cette population de cellules, ainsi que les PDLSC, pourraient être utilisées pour créer une racine biologique sur laquelle il serait possible de poser une couronne.

Dès le début de leur développement, la plupart des tissus humains ne sont pas cliniquement disponibles pour l'isolement des cellules souches mais comme les racines se développent après la naissance, la papille apicale des racines est accessible à partir de dents de sagesse extraites. Ainsi, une source très active de cellules souches ayant des propriétés de type embryonnaire (c'est-à-dire en cours de développement) peut être facilement obtenue.

2.4.4 Cellules souches du follicule dentaire (DFSC)

Le follicule dentaire est un sac de tissu conjonctif lâche dérivé d'un ectomésenchyme qui entoure l'organe de l'émail et la papille dentaire du germe de la dent en développement avant l'éruption [29]. On pense qu'il contient des progéniteurs pour les cémentoblastes, les cellules du ligament parodontal (PDL) et les ostéoblastes. Les cellules folliculaires dentaires (DFC) forment le PDL en se différenciant en fibroblastes qui sécrètent du collagène et interagissent avec les fibres à la surface de l'os et du cément adjacent. Les DFC peuvent former des cellules ressemblant à des cémentoblastes après transplantation chez des souris immunodéprimées (SCID) [30].

Les cellules progénitrices du follicule dentaire isolées à partir des troisièmes molaires humaines sont caractérisées par leur fixation rapide en culture, l'expression des marqueurs de cellules souches Nestin et Notch-1 et leur capacité à former des nodules calcifiés compacts *in vitro*. Toutefois lorsque les DFC ont été transplantées chez des souris immunodéprimées, il y avait peu d'indication de formation de cément ou d'os [31].

Les DFC, comme les SCAP, représentent des cellules d'un tissu en développement et pourraient donc présenter une plasticité supérieure à celle des autres cellules souches dentaires. Toutefois, comme dans le cas du SCAP, des recherches supplémentaires doivent être menées sur les propriétés et les utilisations potentielles de ces cellules.

2.4.5 Cellules souches du ligament parodontal (PDLSC)

Le ligament parodontal est un tissu spécialisé situé entre le cément et l'os alvéolaire et a pour rôle de maintenir et de soutenir les dents. On pense que sa régénération continue implique des progéniteurs mésenchymateux issus du follicule dentaire. Le ligament parodontal contient différents types de cellules, qui peuvent être différenciées en cémentoblastes et en ostéoblastes [32].

Les PDLSC isolées ont une morphologie semblable à celle des fibroblastes et présentent une nature clonogénique [33]. Ces cellules présentent un taux de

prolifération élevée par rapport aux DPSC et expriment STRO-1 et CD146, des marqueurs de cellules souches [33].

Il est donc évident que le ligament parodontal contient lui-même des progéniteurs qui peuvent être activés pour s'auto-renouveler et régénérer d'autres tissus tels que le ciment et l'os alvéolaire [34]. Les PDLSC ont montré qu'ils possèdent des capacités de différenciation sur plusieurs lignées et sont capables de subir des différenciations ostéogéniques, adipogéniques et chondrogéniques lorsqu'elles sont cultivées dans le milieu inductif approprié.

2.4.6 Cellules souches mésenchymateuses de l'os alvéolaire (ABMSC)

Matsubara et ses collaborateurs ont réalisé l'isolation et la culture de cellules souches mésenchymateuses dérivées de l'os alvéolaire humain (hABMSC) [35]. Les cellules isolées présentent une morphologie de fibroblaste en forme de fuseau, une adhésion au plastique et sont capables de former des colonies. Elles ont des potentiels de différenciation chondrogénique et adipogénique similaires à ceux d'autres populations de cellules souches [36].

2.4.7 Cellules progénitrices du germe dentaire (TGSC)

Les TGSC (Tooth Germ Stem Cells) sont une nouvelle population de cellules souches qui ont été identifiées dans le mésenchyme dentaire du germe de la troisième molaire à la fin du stade de la cloche [37].

Les TGSC expriment les marqueurs STRO-1 et CD73,90,105,106 associés aux cellules mésenchymateuses et démontrent une capacité à exprimer les gènes associés à la pluripotence (nanog, oct4, sox2, klf4 et c-myc), indiquant un phénotype mésenchymateux [38].

Dans des conditions de culture spécifiques, les TGSC se différencient en cellules ostéogéniques, adipogéniques et neurogéniques [38].

2.4.8 Cellules souches mésenchymateuses gingivales (GMSC)

Les GMSC (Gingival Mesenchymal Stem Cells) sont des cellules qui peuvent être facilement obtenues au niveau de la gencive de la cavité orale [39].

Les GMSC présentent une capacité de clonogénicité, d'auto-renouvellement, de différenciation multipotente, ce qui en fait une source intéressante de cellules souches mésenchymateuses [40,41].

2.5 Exemple d'isolement des DPSC d'une dent

Un des avantages des cellules souches issues de la pulpe dentaire (DPSC) est leur accessibilité car nous pouvons les récupérer au niveau des dents de sagesse, des dents surnuméraires, ou des dents sur arcade extraites pour raisons orthodontiques. Ces dents sont généralement jetées mais il est possible d'en extraire les cellules souches pour les utiliser ou pour les stocker dans des banques biologiques. Nous allons donc voir les différentes étapes pour prélever, isoler, cultiver et conserver ces cellules souches.

Comme il n'existe pas de méthode standard pour l'isolement des cellules souches mésenchymateuses et donc des DPSC, chaque équipe possède sa propre technique, ce qui complique la comparabilité des résultats expérimentaux [42].

De nombreux laboratoires utilisent les mêmes techniques de détection et d'isolement de cellules souches : prélèvement dans des conditions stériles, digestion avec un mélange de collagénase/dispase, et sélection par des marqueurs sélectifs [43]. La technique d'isolement utilisée dans la plupart des laboratoires est basée sur l'utilisation de cytomètres de flux avec un trieur de cellules appelé FACS (trieur de cellules activées par fluorescence).

2.5.1 Prélèvement et extraction pulpaire

Dans le cadre de recherches scientifiques, la pulpe dentaire doit être extraite de dents de préférence saines [44].

Chaque sujet doit être soumis à une anamnèse médicale poussée et seuls les patients indemnes de maladie sont sélectionnés.

En France, chaque patient devra être informé que sa dent servira à la recherche et il devra signer un accord de non opposition mentionnant qu'il ne sera tiré aucun bénéfice commercial, pharmaceutique et industriel [45].

Après l'extraction des dents de sagesse des patients sélectionnés, la dent peut être nettoyée à l'aide d'une compresse et placée dans un tube de collection rempli d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) et d'antibiotiques (pénicilline et streptomycine) [46].

Le tube pourra ensuite être directement acheminé sur glace au laboratoire où il faudra qu'il soit conservé à 4 degrés Celsius le moins longtemps possible. Il faut ensuite nettoyer à l'éthanol à 70° les racines de la dent [47].

A l'aide d'un disque diamanté il est possible de sectionner la dent au niveau de la jonction amélo-cémentaire ou de préférence sectionner la dent en deux pour avoir accès à la chambre pulpaire (figure 3).

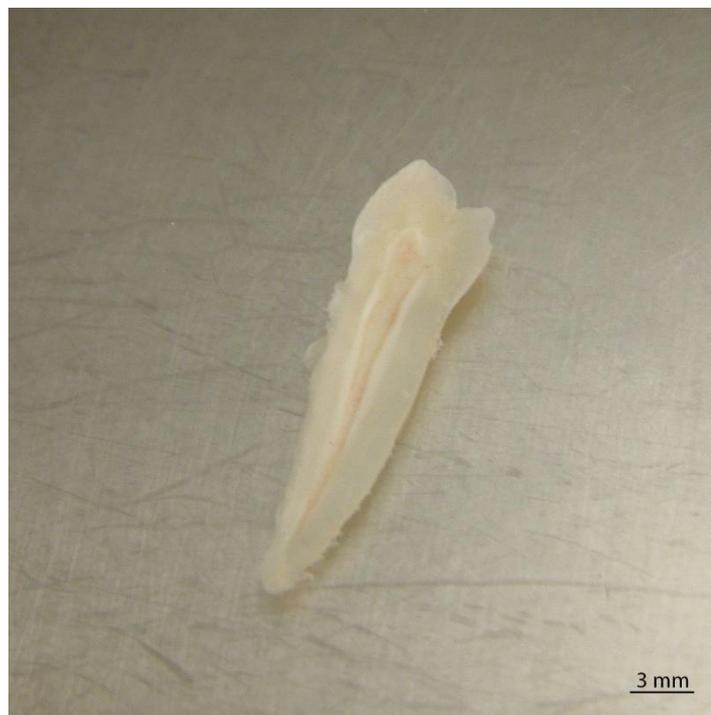


Figure 3: image d'une prémolaire mandibulaire sectionnée en deux pour récupérer la pulpe dentaire (photo du Dr. Vandomme)

Il est important que la découpe soit lente pour éviter de créer trop d'échauffement sur les cellules pulpaire ce qui pourrait les endommager.

Une fois que la pulpe dentaire est extraite, elle peut être placée dans une boîte de pétri (figure 4) remplie d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), puis découpée en petits fragments à l'aide d'un scalpel [47].



Figure 4: pulpe d'une prémolaire maxillaire placée dans une boîte de pétri avec une solution de PBS (photo du Dr. Vandomme)

Néanmoins si la dent est extraite à un stade où les racines n'ont pas encore évoluées, la récupération de la pulpe camérale sera beaucoup plus simple et pourra être faite avec une simple curette de Gracey.

2.5.2 Isolement

La société internationale de thérapie cellulaire a défini 3 critères d'identification des cellules souches mésenchymateuses *in vitro* [48] :

- les cellules doivent adhérer au plastique dans les conditions de culture standard ;
- plus de 95% doivent exprimer CD105, CD73 et CD90 ;
- moins de 2% seulement peuvent exprimer CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19 et les molécules de surfaces HLA de classe II. Il faut également une absence de marqueurs de la lignée hématopoïétique ;
- elles doivent pouvoir, dans des conditions de culture standard, se différencier en ostéoblaste, adipocytes et chondrocytes.

Les morceaux seront ensuite soit dissociés de façon mécanique (figure 5 A) ou digérés à l'aide d'enzymes (figure 5 B) pour en extraire la matrice extra cellulaire.

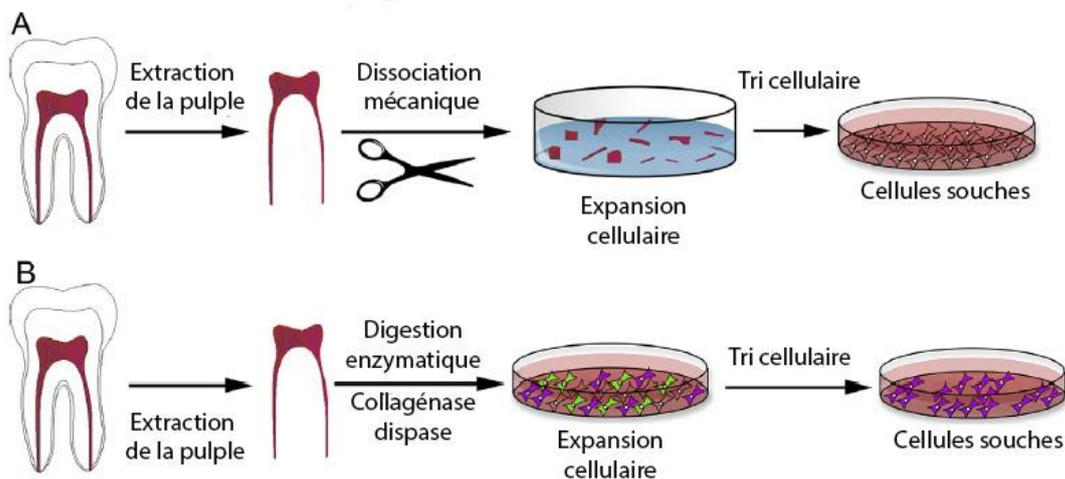


Figure 5: schéma montrant la différence entre la technique d'explant (A) et la digestion enzymatique (B) pour l'isolation des cellules de la pulpe dentaire (d'après La Noce [49])

2.5.2.1 Digestion enzymatique

Les combinaisons enzymatiques généralement utilisées pour détruire les structures extracellulaires sont [50–52] :

- 3mg/mL de collagénase de type I ;
- 4mg/mL de dispase de type II ;

Gronthos et son équipe sont les premiers à avoir isolé des DPSC. Ils ont utilisé ce mélange enzymatique pendant 90 minutes à 37 degrés Celsius [14].

Mais l'étude de Viña-Alumnia et son équipe a montré qu'il était possible d'accélérer et de maximiser le nombre de DPSC obtenues en ajoutant à cette technique un traitement par 2mg/mL d'EDTA pendant 10 minutes, 13ng/mL de thermolysine pendant 40 minutes et 1 minute de sonication [53].

La pulpe dentaire extraite est donc soumise à une digestion enzymatique à 37 degrés Celsius pendant environ 1 heure en fonction de la méthode choisie, ce qui va permettre la digestion des tissus et la libération des cellules.

La suspension cellulaire ainsi obtenue est filtrée sur un tamis cellulaire de 70 µ et sera ensuite placée dans un milieu de culture.

2.5.2.2 Culture d'explant

Dans cette technique, décrite par Couble et coll. [54], la pulpe est découpée en explants de 1-2 mm³ et directement placée dans des boîtes de pétri contenant un milieu de culture supplémenté en antibiotiques et antifongiques (pénicilline, streptomycine, amphotéricine B) et en sérum de veau fœtal.

Le tout doit être placé dans un incubateur à 37 degrés Celsius et sous 5% de CO₂. Au bout de 4 à 8 semaines, on obtient une synthèse et une minéralisation de la matrice extra cellulaire, ce qui prouve la présence de précurseurs.

Les deux techniques, digestion enzymatique et culture d'explant permettent l'obtention de DPSC, et les études ne révèlent aucune différence dans la morphologie cellulaire, le taux de prolifération, l'expression des marqueurs de cellules souches et le potentiel de différenciation mésenchymateux [55]. Néanmoins la technique d'explant a l'avantage d'être plus simple et plus accessible financièrement [56].

2.5.3 Amplification

Il y a différentes techniques de séparation cellulaire possibles pour séparer et dissocier les DPSC des autres cellules : par migration et multiplication, par adhésion au plastique des boîtes de Petri, par taille en utilisant des tamis de différents diamètres, par tri cellulaire magnétique ou par fluorescence [57].

Les techniques les plus précises et les plus utilisées sont le tri cellulaire magnétique et par fluorescence (figures 6 et 7) : elles visent à identifier, quantifier et séparer les cellules en fonction de leurs propriétés intracellulaires (ADN, ARN, protéines) ou leur phénotype (antigènes présents à leurs surfaces).

2.5.3.1 Tri cellulaire par fluorescence (FACS : Fluorescence Activated Cell Sorting)

Le tri cellulaire activé par fluorescence (FACS) est un type spécialisé de cytométrie en flux. Il fournit une méthode de tri d'un mélange hétérogène de cellules dans deux conteneurs ou plus, une cellule à la fois, en fonction des caractéristiques spécifiques de diffusion de la lumière, de fluorescence de chaque cellule ou encore en fonction de sa taille et de sa structure (figure 6). Il permet un enregistrement rapide, objectif et quantitatif des signaux fluorescents provenant de cellules individuelles, ainsi qu'une séparation physique des cellules [58].

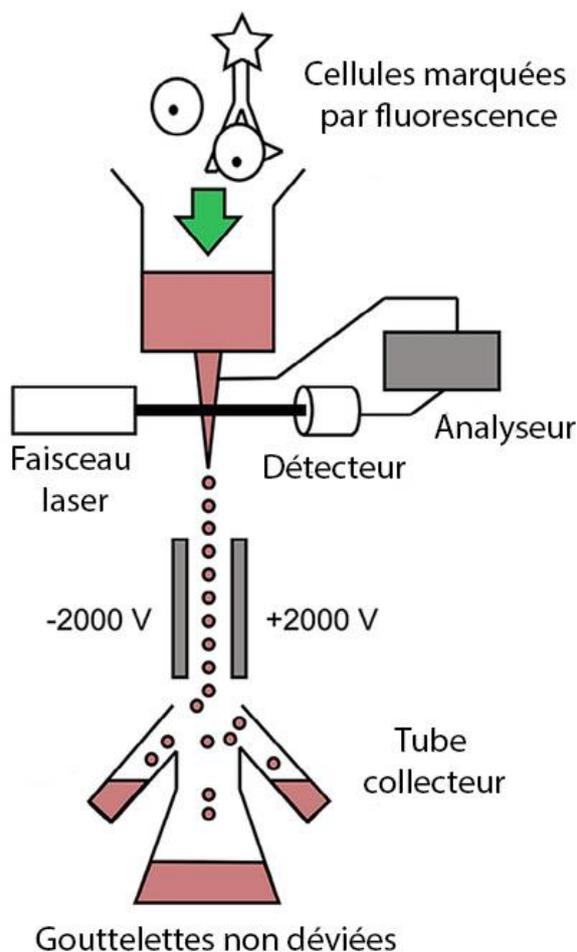


Figure 6: tri cellulaire par fluorescence (selon Berger [59])

2.5.3.2 Tri cellulaire magnétique (MACS : Magnetic Activated Cell Sorting)

La séparation des cellules par magnétisme repose sur des anticorps couplés à des billes magnétiques (figure 7). Au cours de l'incubation avec une suspension cellulaire, le complexe anticorps / billes se lie aux cellules exprimant l'épitope correspondant. Lorsque la suspension cellulaire est placée dans un champ magnétique, les cellules marquées magnétiquement sont conservées, tandis que les cellules non marquées peuvent être éliminées. Pour récupérer les cellules marquées, l'échantillon est retiré du champ magnétique. [58]

Il est également possible de marquer toutes les cellules dont on n'a pas besoin et de récupérer uniquement les cellules non marquées. L'intérêt de cette technique est de ne pas dénaturer ou activer ces dernières.

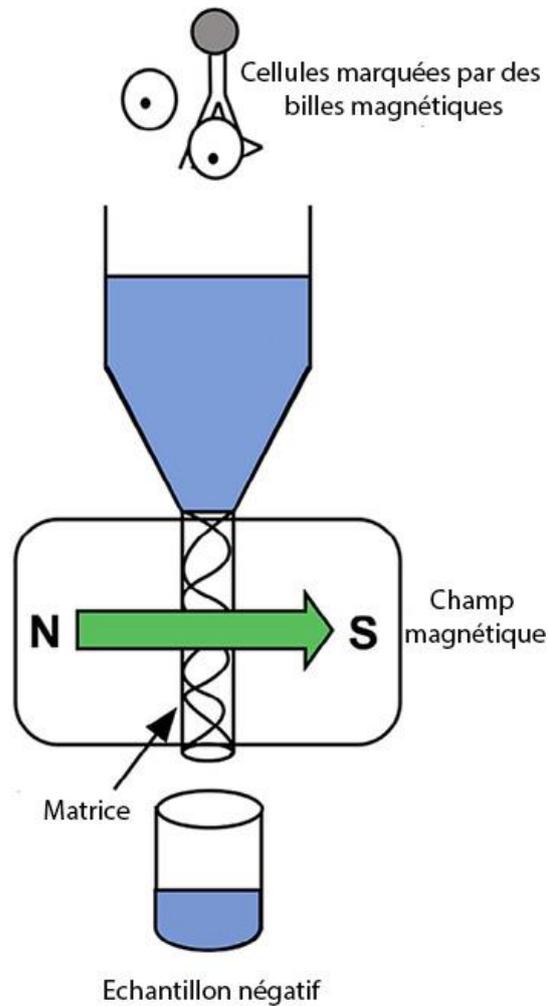


Figure 7: tri cellulaire magnétique (selon Berger [59])

2.5.4 Conservation

Une fois les DPSC identifiées, triées et mises en culture, elles peuvent être conservées afin d'être utilisées dans le futur car ces cellules ont le potentiel de se différencier en plusieurs types de cellules comme vu précédemment.

Bien que cette capacité unique leur confère une grande valeur, les cellules souches sont également très vulnérables aux changements d'environnement et doivent être traitées avec précaution. Les changements de température, en particulier, peuvent affecter la fonction des cellules. Des contrôles de qualité appropriés doivent donc être mis en place pour éviter de compromettre leur valeur thérapeutique.

La cryopréservation des cellules assure leur stabilité, leur disponibilité en cas de besoin et maintient une diversité de lignées cellulaires.

Le processus de cryopréservation des cellules souches implique la récolte des cellules, l'ajout d'un cryoprotecteur, la congélation des cellules, et finalement leur décongélation en cas de besoin.

Comme les cellules souches se différencient facilement, chaque étape doit être réalisée de manière à optimiser la viabilité cellulaire tout en préservant un état indifférencié.

La procédure de congélation des cellules souches implique généralement un refroidissement en présence d'un cryoprotecteur pour protéger les cellules des effets néfastes de la déshydratation et de la formation de glace intracellulaire.

Beaucoup de solutions cryoprotectrices différentes sont disponibles dans le commerce, stériles et testées aux endotoxines [60].

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) est l'un des cryoprotecteurs couramment utilisé, en raison de son efficacité et de sa polyvalence.

Comme la plupart des cryoprotecteurs, le DMSO est toxique pour les cellules si celui-ci est présent en grande concentration ou que les cellules y sont exposées trop longtemps [61]. Pour cette raison, il doit être éliminé ou dilué dès que possible après la décongélation des cellules.

L'utilisation d'une technique de congélation à vitesse contrôlée qui refroidit les cellules à -80°C à une vitesse de $1-2^{\circ}\text{C} / \text{min}$ est considérée comme standard [62,63]. Pour cela, on place les vials de cellules dans un récipient de congélation rempli d'alcool isopropylique. Ensuite le tout est immergé dans de l'azote liquide à -196 degrés Celsius.

2.6 Réglementation en vigueur

Actuellement, de plus en plus de compagnies de banques biologiques proposent de récolter, isoler et conserver les cellules souches des dents de lait, des dents surnuméraires, des dents qui doivent être extraites pour raisons orthodontiques ou des dents de sagesse incluses afin qu'elles puissent être utilisées s'il y en a la nécessité

dans le futur. Il y a plusieurs compagnies en Suisse qui proposent ce service comme le Rhone Dental Clinic ou le Future Health Biobank, ou encore le ToothBank aux Etats-Unis.

En France, la loi interdit le développement de ces banques commerciales car seul le don de cellules allogéniques à des banques de nature non commerciales est autorisé [64].

En effet c'est en 1994 qu'en France est créée une loi de « bioéthique » pour garantir le respect du corps humain dans le cadre des pratiques médicales et d'encadrer le don et l'utilisation des éléments issus d'un individu.

C'est pour la première fois qu'en 2011, une biobanque privée nommée l'Institut Clinident Biopharma (ICB) s'installe en France et dit avoir pour but de devenir « la première biobanque privée pour la préparation et la conservation pour un usage thérapeutique autologue des cellules souches dentaires ».

En juin 2011 L'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) lui autorise « d'exercer les activités de préparation et de conservation de tissus (pulpe dentaire et ses cellules souches dentaires) utilisés à des fins thérapeutiques autologues », mais annule cette décision en octobre 2011.

À la suite de cela, l'ICB a saisi le tribunal administratif de Clermont Ferrand pour juger la légalité de la décision de l'AFSSAPS.

Le tribunal a jugé que « la conservation de la pulpe dentaire et son exportation à des fins autologues potentielles ultérieures, sont contraires aux dispositions des articles L. 1243-2 et L. 1245-5 du code de la santé publique qui n'envisagent ces activités qu'à des fins thérapeutiques avérées. En outre, le code civil dans ses articles 16-1 alinéa 3 et 16-5 affirme le principe de non-patrimonialité du corps humain. Ce principe interdit le fait pour une personne de conclure une convention à titre onéreux, pour que soient conservés dans des conditions techniques adaptées, les éléments de son corps. Ce sont les raisons pour lesquelles, en application de la jurisprudence administrative (Conseil d'État, 26 octobre 2001, Ternon), le directeur général de l'AFSSAPS, par décision du 14 octobre 2011, a pu procéder au retrait de l'autorisation du 14 juin 2011

en ce qu'elle était illégale et ce dans le délai de quatre mois prescrit par cette jurisprudence ». La décision finale est rendue en juillet 2013 et interdit l'installation d'ICB en France [65].

Pour l'instant il n'est donc pas possible de conserver ses cellules souches en France ni de les utiliser dans le but d'un traitement autologue. Il faudra attendre et espérer que dans les prochaines révisions de la loi bioéthique ce sujet soit abordé et qu'il y ait un changement qui permette à ces biobanques de s'installer en France.

3 Ingénierie tissulaire

3.1 Définition

La perte partielle ou totale d'un organe chez un individu représente un problème clinique majeur. Les difficultés liées au remplacement chirurgical de l'organe sont principalement la pénurie de donneurs d'organes et le risque accru d'infection associé à l'implantation de matériaux étrangers. Pour remédier à ces problèmes, le domaine de l'ingénierie tissulaire, qui applique les principes et les méthodes de l'ingénierie aux problèmes biomédicaux, a vu le jour [66].

Les technologies d'ingénierie tissulaire englobent l'utilisation de matériaux synthétiques ou naturels comme substituts biologiques pour la réparation ou la régénération des tissus et le recrutement de cellules pour stimuler la fonction des organes.

Dans la première application de l'ingénierie tissulaire moderne à une maladie, Chick *et al.* ont placé des cellules d'îlots de pancréas dans des membranes semi-perméables pour améliorer la régulation du glucose chez des individus diabétiques [67]. Actuellement, la peau cultivée artificiellement, constituée de cellules fibroblastiques ensemencées sur des échafaudages constitués de collagène, est utilisée en pratique clinique dans le traitement des brûlures et des ulcères diabétiques [68]. En conséquence, la peau a été le premier organe créé artificiellement à avoir reçu l'approbation de la FDA (*Food and Drug Administration*) aux États-Unis.

En ingénierie tissulaire, des patrons constitués de biomatériaux naturels ou synthétiques vont être utilisés. Appelés « *scaffolds* », ce qui signifie échafaudage en anglais, ils vont fournir un environnement tridimensionnel (3D) pour soutenir l'adhésion, la prolifération, la différenciation cellulaire et la délivrance de facteurs de croissance permettant la différenciation des cellules pour générer les tissus désirés [69]. Ainsi, le *scaffold* est une structure temporaire qui se dégrade dans le temps de manière contrôlée et qui est éventuellement remplacée par une matrice extra cellulaire et le tissu d'intérêt nouvellement formé.

Les types de matériaux et la conception d'un *scaffold* sont difficiles et les caractéristiques vont varier en fonction du tissu voulu.

Une dent, comme un os, est classée dans les tissus durs, mais les différences principales entre les processus ostéogénique et odontogène affectent la conception de leur *scaffold*. Par exemple, les signaux des cellules épithéliales sont nécessaires pour initier la différenciation des pré-odontoblastes en odontoblastes. Les odontoblastes présentent une polarité de sorte que la condition préalable à la génération de la dentine est l'alignement des odontoblastes à la surface de la matrice ou de la dentine existante, alors que les ostéoblastes ne présentent pas de polarité [70]. Les propriétés nécessaires à la construction d'un *scaffold* pour la croissance de tissu osseux ne vont donc pas être les mêmes que pour les tissus dentinaires.

Des propriétés mécaniques tel que la porosité (taille des pores, son volume et sa structure), le taux de biodégradation, la biocompatibilité et la faible immunogénicité vont donc être des caractéristiques importantes à prendre en compte dans la sélection d'un *scaffold* afin d'assurer le résultat souhaité. Nous allons donc voir ici les différents *scaffold* que nous pourrions utiliser pour recréer une dent et leurs méthodes de fabrication.

3.2 Les différents types de scaffolds pour la régénération dentaire

Les *scaffolds* imitent la matrice extracellulaire naturelle et peuvent être fabriqués à partir de matériaux naturels ou synthétiques. Le *scaffold* doit être biocompatible et biodégradable, favoriser la fixation et la croissance des cellules, puis faciliter le développement de nouveaux tissus et organes. Des matériaux dérivés de sources naturelles telles que le collagène ont été fréquemment utilisés comme matrices extracellulaires, car ils imitent l'environnement cellulaire natif [71].

Divers polymères synthétiques biodégradables, tels que l'acide poly-glycolique (PGA) [72], le copolymère poly-l-lactique-caprolactone [73] et le copolymère d'acide polyglycolique-poly-l-lactique [74] ont également été utilisés comme *scaffolds* pour l'ingénierie tissulaire.

Les matériaux synthétiques présentent certains avantages car leurs propriétés telles que la résistance, la période de dégradation, la porosité et la microstructure peuvent être contrôlées au cours de la fabrication. La fixation cellulaire à ces polymères peut être améliorée soit en modifiant le polymère chimiquement, soit en le revêtant.

Les *scaffolds* en polymère peuvent être fabriqués facilement et de manière reproductible dans des formes et des tailles définies lors de la conception d'une stratégie optimale d'ingénierie tissulaire [75].

Nous allons donc voir dans cette partie les différents matériaux et techniques qui peuvent être utilisés pour fabriquer des *scaffolds* propices à la croissance des cellules souches et que l'on pourrait utiliser par la suite pour la régénération dentaire.

3.2.1 Les *scaffolds* en polymères biologiques

Les matériaux naturels provenant de plantes ou d'animaux présentent généralement d'excellentes propriétés pour les applications biomédicales, notamment une bonne biocompatibilité, bioactivité et de la biodégradabilité. De nombreux polymères naturels tels que le collagène, le chitosan, la soie, l'alginate et l'acide hyaluronique sont fréquemment utilisés dans l'ingénierie tissulaire du tissu dentaire, seule ou en combinaison avec d'autres matériaux synthétiques.

3.2.1.1 À base de collagène

Le collagène est une protéine fibreuse largement répandue dans le corps et trouvée dans la matrice extracellulaire de plusieurs tissus dentaires, en particulier la dentine. L'éponge de collagène présente de nombreux avantages en tant que *scaffold*, notamment sa composition similaire à celle de la matrice extracellulaire, sa faible immunogénicité et cytotoxicité, ainsi que l'efficacité avec laquelle elle peut former différentes formes [71].

Les *scaffolds* et les gels d'éponges de collagène ont été étudiés pour la régénération des dents et les résultats indiquent que ces matériaux naturels retiennent les cellules, favorisent la prolifération et la différenciation cellulaires et aident à la formation de tissus calcifiés [76].

Lors de l'ensemencement de DPSC sur un *scaffold* de collagène pendant 6 semaines, l'établissement d'un tissu pulpaire a été observé, démontrant que les *scaffolds* de collagène pourraient stimuler une formation de matrice comparable à celle des tissus pulpaire [77].

Une nouvelle technique a été développée par Honda *et al.* [78] pour ensemercer séquentiellement des cellules épithéliales et des cellules mésenchymateuses sur des *scaffolds* de collagène et combiner directement les deux types de cellules pour ensuite être implantées chez des rats immunodéprimés.

Les résultats ont montré qu'en utilisant cette technique, la morphologie de la dent développée *in vivo* ressemblait à une dent naturelle et qu'une seule structure de dent était générée dans chaque *scaffolds*, ce qui a confirmé que la technique d'ensemencement cellulaire proposée pouvait être utilisée pour contrôler la morphologie des dents régénérées.

Le collagène favorise naturellement l'adhésion cellulaire, la migration et la prolifération de celles-ci, mais ses propriétés mécaniques ne sont pas très élevées. Il est souvent nécessaire de combiner le collagène avec d'autres matériaux pour améliorer sa rigidité mécanique [79].

3.2.1.2 À base de chitosan

Le chitosan est un polysaccharide obtenu par la désacétylation de la chitine, qui est un élément principalement retrouvé dans l'exosquelette des crustacés.

Biocompatible et biodégradable, il est actuellement utilisé avec d'autres polymères dans diverses applications en ingénierie tissulaire [80,81].

Un système de co-culture multicouche tridimensionnelle utilisant des mélanges de collagène de type I et de chitosan a été mis au point etensemencé avec des DPSC et des cellules épithéliales dentaires Hat-7 afin de déterminer les interactions épithélo-mésenchymateuses. Les résultats ont montré que cette technique facilitait la co-culture de cellules épithéliales et mésenchymateuses et, après 24 jours de culture, des dépôts de calcium ont été observés. L'unicité de ce *scaffold* réside dans sa structure bio-mimétique en couches macroscopiques à caractéristiques mécaniques réglables qui soutient le mouvement des deux types de cellules dans toutes les directions [82].

Un groupe de chercheurs a étudié diverses formes de chitosan et mis au point une membrane bicouche composée d'un film dense d'un côté et d'une éponge macroporeuse contenant des microparticules de TGF- β / chitosan de l'autre côté pour étudier la dentinogénèse. Ils ont observé une augmentation drastique de la prolifération de cellules ressemblant à des odontoblastes et la formation de dentine *in vitro* et *in vivo* [83].

Même si pour le moment aucune étude n'a été faite avec le chitosan seul pour de la régénération d'une dent complète, combiné avec d'autres polymère c'est un matériau prometteur pour la régénération de tissus dentaires et pourrait nous être utile dans le futur dans le processus de création de *scaffold* de germes de dents ou de dents matures à implanter.

3.2.1.3 À base de protéines de soie

Les protéines à base de soie sont biodégradables, biocompatibles, non immunogènes [84] et les *scaffolds* qui en sont constitués se sont révélés utiles dans l'ingénierie tissulaire du tissu osseux [85,86].

L'étude de Xu *et al.* en 2008 est la première à caractériser les tissus issus à partir de cellules de bourgeon dentaireensemencées sur des *scaffolds* en soie et indique que ces derniers peuvent être utiles pour guider la formation de tissu minéralisé de tailles et de formes précises [87].

Néanmoins pour le moment même s'il a été beaucoup étudié pour la régénération du tissu osseux, peu d'études ont été faites avec ce matériau en ingénierie tissulaire du tissu dentaire, il faut donc poursuivre les recherches à ce niveau.

3.2.1.4 À base d'alginate

L'alginate est un polysaccharide naturel qui forme un hydrogel stable qui fournit une matrice favorable à la prolifération et à la différenciation cellulaire. L'alginate présente un intérêt particulier pour un large éventail d'applications en tant que biomatériau et en particulier en tant que matrice de soutien ou système d'administration pour la réparation et la régénération des tissus. En raison de ses propriétés en termes de biocompatibilité, de biodégradabilité et de non-antigénicité, l'alginate a été largement utilisé dans diverses applications biomédicales, notamment en ingénierie tissulaire et dans l'administration de médicaments [88].

Moshaverinia *et al.* ont développé en 2012 un *scaffold* injectable et biodégradable à base de microbilles d'alginate oxydées encapsulant des PDLSC et des GMSC et les résultats ont montré que l'alginate est un candidat prometteur en tant que *scaffold* non toxique pour ces cellules. Il a également la capacité de diriger la différenciation de ces cellules souches vers des tissus ostéogènes et adipogènes. Cela a montré que l'immobilisation de PDLSC et de GMSC dans des microsphères d'alginate constitue une stratégie prometteuse pour l'ingénierie du tissu osseux [89].

Une étude de Dobie *et al.* a montré qu'un hydrogel d'alginate contenant du TGF- β 1 peut induire une différenciation odontoblastique de DPSC et augmenter la sécrétion de matrice dentinaire [90]. Il a été également démontré que la conservation de DPSC dans des microsphères d'alginate peut préserver leur viabilité et améliorer leur production de tissu minéralisé pendant trois semaines [91]. Ces capacités en font un biomatériau prometteur et pourraient permettre par la suite de l'utiliser en tant que vecteur pour l'implantation de germes dentaires reconstitués dans la cavité buccale.

3.2.1.5 À base d'acide hyaluronique et de peptides

Le nom acide hyaluronique a été inventé pour le polysaccharide constitué de *hyalos* (qui signifie vitreux) et d'acide uronique. C'est un polysaccharide naturel hautement conservé chez les mammifères qui constitue le composant principal de la matrice extra cellulaire dans les tissus conjonctifs.

L'acide hyaluronique et ses dérivés sont réputés avoir un excellent potentiel en ingénierie tissulaire. En effet, il peut être modifié chimiquement et structurellement pour diverses applications [92].

Des combinaisons de facteurs de croissance couplés avec une éponge d'acide hyaluronique peuvent servir à la régénération de la pulpe dentaire [93]. En effet, l'éponge d'acide hyaluronique présente la structure physique, la biocompatibilité et la biodégradation appropriées en tant que vecteur pour la régénération de la pulpe dentaire. Dans cette même étude les *scaffolds* en acide hyaluronique ont également entraîné moins d'inflammation que les *scaffolds* en collagène [93].

Dans les applications d'ingénierie des tissus durs, notamment les os, le cartilage et la dentine, les *scaffolds* de protéines ou de peptides sont de plus en plus utilisés. Cela est principalement dû au fait que les peptides sont principalement des matériaux biologiques à l'échelle nanométrique qui pourraient être facilement incorporés dans des constituants organiques ou inorganiques afin de fabriquer divers types de nanocomposites. Ces *scaffolds* présentent des caractéristiques de biocompatibilité très intéressantes et des caractéristiques physico-chimiques bénéfiques qui aident à stimuler l'interaction cellulaire et à stimuler la production de matrice tissulaire [94].

Les peptides à auto-assemblage ou les amphiphiles peptidiques sont basés sur le principe des interactions protéine-protéine et du repliement des protéines.

Dans une étude de Galler *et al.*, deux lignées de cellules souches dentaires (SHED et DPSC) ont été combinées à des *scaffolds* formés par des hydrogels peptidiques amphiphiles et ont montré des différences de morphologie, de prolifération et de comportements de différenciation. Les SHED ont produit du collagène synonyme d'une formation de tissu mou alors que les DPSC ont présenté des marqueurs d'ostéoblaste, preuve de la formation de tissu minéralisé [95].

Les hydrogels étant faciles à manipuler et pouvant être introduits dans de petits défauts, ce nouveau système pourrait convenir à la conception de matrices molles et à la fois minéralisées pour la régénération des tissus dentaires. Néanmoins, ces hydrogels d'acide hyaluronique et de peptides, mêmes s'ils sont prometteurs pour la fabrication de *scaffolds* pour la régénération partielle de tissus dentaires, n'ont pas montré à ce jour d'intérêt pour une utilisation à des fins de régénération d'une dent complète.

3.2.2 Les *scaffolds* synthétiques

Les biomatériaux synthétiques peuvent être fabriqués à partir de polymères organiques tels que le poly-acide-lactique (PLA), le poly-acide-glycolique (PGA), le PLGA (PLA et PGA combinés) et le poly-caprolactone (PCL) ou à partir de matériaux inorganiques de calcium et de phosphates tels que l'hydroxyapatite (HA).

Les matériaux synthétiques présentent de nombreux avantages car il est possible de fabriquer ces matériaux dans des conditions contrôlées pour produire la structure souhaitée en termes de temps de dégradation, de porosité, de rigidité-élasticité, de texture, de forme et d'hydrophilie [96].

Cependant ils manquent de bioactivité et de reconnaissance biologique inhérent, ce qui impose des manipulations supplémentaires pour améliorer leur activité biologique [96].

3.2.2.1 A base d'acide poly-glycolique (PGA)

L'utilisation de PGA seul ou en combinaison avec d'autres matériaux synthétiques ou naturels constitue un des *scaffolds* les plus étudiés pour la régénération de tissus dentaires, en particulier de la pulpe [97,98].

Le PGA est un matériau biodégradable qui produit un métabolite naturel, l'acide glycolique, qui est éliminé de l'organisme par des voies métaboliques naturelles. C'est de ça que sont fabriqués la plupart des fils de sutures résorbables que nous utilisons. Cela rend le PGA plus approprié pour les applications cliniques car il a déjà été

approuvé sans risque pour la santé par les divers organismes de régulation des médicaments.

Plusieurs études qui avaient pour but de recréer une dent complète *de novo* ont utilisé des *scaffolds* en PGA et ont réussi à obtenir tous les tissus composant la dent avec une morphologie plus ou moins correcte selon les études [99–101].

3.2.2.2 A base d'acide poly-lactique-co-glycolique (PLGA)

Le PLGA est un copolymère qui tire parti des avantages du PGA et du PLA en tant que monomères pour générer un échafaudage optimal avec des propriétés mécaniques et physico-chimiques appropriées et un taux de dégradation ajustable.

Des *scaffolds* fabriqués à partir de PLGA ont été utilisés avec succès dans plusieurs études pour la bio-ingénierie d'une couronne dentaire ou d'une dent complète, comme par exemple l'étude de Young *et al.* en 2002 [102]. La génération de structures dentaires s'est produite lorsque les chercheurs ont chargé des cellules du bourgeon dentaire sur des *scaffolds* de PLGA et les ont implantées dans la colonne vertébrale de rats athymiques.

L'orientation de la fibre PLGA détermine la morphologie des cellules souches et n'a aucun impact à long terme sur l'alignement des cellules [103].

L'incorporation de matériaux inorganiques comme l'HA dans les *scaffolds* en PLGA fournit également un environnement approprié pour favoriser une régénération efficace du tissu dentaire. Les *scaffolds* en PLGA / HA favorisent la différenciation des cellules souches du bourgeon dentaire de porc vers un phénotype odontoblastique [103].

3.2.2.3 A base d'hydroxyapatite (HA)

L'HA constitue le principal composant minéral de la dentine. Par conséquent, l'utilisation d'HA, en particulier sous une forme nanométrique, imite les nanocristaux d'HA dans les tissus dentaires.

La fabrication de *scaffolds* nano ou microstructurés pour imiter des structures et des configurations tridimensionnelles d'os ou de dents naturels ont fait l'objet de nombreuses études. Une nouvelle stratégie pour l'auto-assemblage de nanotiges d'hydroxyapatite unidimensionnelles avec un emplacement choisi pouvant simuler une structure osseuse ou « semblable à l'émail » a été rapportée [104].

Des *scaffolds* cylindriques d'HA poreux à centre creux ont été mis en place pour la régénération dentaire, et des cellules mésenchymateuses de la moelle osseuse ont étéensemencées dans leurs pores. Ces *scaffolds* ont été implantés dans le dos de rats pendant 4 semaines et les résultats ont indiqué que l'ostéogenèse dans les pores des *scaffolds* composite cellule / HA était clairement favorisée [105].

Des échafaudages synthétiques en HA (ENGIpore ©) combinés avec des cellules souches du follicule dentaire humain (hDFSC) ont été cultivés *in vitro* pour analyser la structure morphologique et la production de matrice extracellulaire.

Il a été observé qu'au bout d'une semaine, une fixation et une colonisation intenses des cellules de forme polygonale au *scaffold* en HA. Après 6 semaines, une organisation 3D des cellules et la présence de matériel dense autour des grappes de cellules ont été observées [106].

Des cellules de papille dentaire porcine ont étéensemencées sur un *scaffold* de phosphate tricalcique bêta (β -TCP), puis ce *scaffold* cellulaire a été transplanté chez une souris athymique. Les résultats ont montré qu'une structure de type complexe dentino-pulpaire pouvait être formée avec succès [107].

La culture cellulaire de DPSC dans des *scaffolds* nanofibreux à plusieurs parois de poly (acide L-lactique) (PLLA) / nanotubes de carbone (MWNT) / hydroxyapatite (HA) pourrait également être utilisée en tant que *scaffold* potentiel dans l'ingénierie des tissus dentaires [108].

La littérature scientifique suggère donc que l'utilisation de *scaffolds* fabriqués à base d'hydroxyapatite (HA), biocompatible et non toxique, serait efficace combinée aux cellules souches pour la régénération de la dentine ou d'un complexe dentino-

pulpaire, mais elle ne semble pas présenter d'intérêt pour la régénération de dents complètes, à moins d'être combinée à d'autres polymères tel que le PLGA.

3.2.2.4 A base de poly-caprolactone (PCL)

Le PCL est un autre polymère synthétique utilisé pour la régénération des tissus durs, comme l'os. Les *scaffolds* de PCL sont biocompatibles, ont de faibles taux de dégradation et soutiennent l'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules odontogènes [109].

Une étude de Yang *et al.* a montré que l'ajout de nano HA dans un nanocomposite de PCL / gélatine a considérablement favorisé la différenciation odontogène des DPSC de ratsensemencés *in vitro* et *in vivo* par rapport au *scaffold* PCL / gélatine dépourvu de nano HA [110].

Mais, même s'il présente des capacités intéressantes en ingénierie tissulaire des tissus dentaires, il n'a pas été utilisé dans les études de régénération de dents complètes.

Parmi les différents types de matériaux synthétiques que nous avons vus, ceux qui ont été le plus utilisés et qui présentent le plus d'intérêt dans la bio ingénierie de dents complètes sont le PGA et le PLGA.

3.3 Les facteurs de croissance

En ingénierie tissulaire, pour avoir une construction appropriée pour la génération de nouveau tissu chez l'hôte, il y a une nécessité de molécules bioactives exogènes telles que des facteurs de croissance, des morphogènes ou des molécules dérivées de la MEC (Matrice Extra Cellulaire), afin de générer des tissus ou des organes appropriés. Ces biomolécules peuvent favoriser le processus de guérison et permettre une régénération efficace des tissus. Les facteurs de croissance incorporés dans les *scaffolds* recrutent des cellules sur le site du défaut pour le traitement des tissus

malades. Ils régulent généralement l'activité cellulaire et induisent la prolifération des cellules souches ou progénitrices et leur différenciation en une lignée spécifique en se liant à des récepteurs spécifiques de la membrane cellulaire [111,112].

Plusieurs molécules de signalisation sont polyvalentes et ont les mêmes effets stimulants dans différents types de cellules. En revanche, différentes réponses avec un certain degré de spécificité peuvent être provoquées par le même signal dans divers tissus ou même sur différentes périodes de temps. Diverses voies de signalisation et molécules ont été identifiées dans les processus de détermination des caractéristiques morphologiques des dents telles que la taille de la couronne, le type de motif de la cuspide et la longueur de la dent, ainsi que dans la réparation de la pulpe et de la dentine. Ces composants de signalisation : Shh, FGF, BMP et Wnt, régulent l'activité cellulaire dans la régénération du tissu dentaire en organisant les interactions réciproques entre les cellules épithéliales et mésenchymateuses [113].

Récemment, plusieurs facteurs de croissance associés à divers matériaux et cellules ont été utilisés avec succès pour favoriser la régénération dentaire dans les contextes précliniques et cliniques. Les TGF, les BMP, le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), le facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF) et le FGF-2 sont les molécules de signalisation les plus étudiées en ingénierie tissulaire.

3.3.1 PDGF (Platelet Derived Growth Factor)

Le PDGF est le premier facteur de croissance dont la forme recombinante a été approuvée par la FDA [114].

Les résultats prometteurs d'études extensives précliniques, en particulier sur la régénération parodontale et péri-implantaire, montrent la capacité puissante du PDGF en contexte clinique. Le PDGF est un facteur de croissance bien caractérisé pour les biomatériaux dentaires destinés aux applications d'ingénierie buccale et dentaire. Il s'agit d'une glycoprotéine de poids moléculaire élevé, principalement libérée par les plaquettes, les cellules inflammatoires et l'os endommagé [115].

Le PDGF régule le taux de prolifération et affecte la différenciation odontoblastique. Cependant son potentiel de différenciation varie selon les dimères du PDGF.

Le PDGFR α et le PDGF-A régulent spécifiquement l'interaction épithélio-mésenchymateuse prolongée au cours de la morphogenèse des dents et du palais [116].

Le PDGF exerce un effet stimulant sur la formation d'une matrice de dentine minéralisée, et possède un potentiel de régénération dans divers tissus de la bouche, notamment le cément, la gencive et l'os alvéolaire [117,118].

Néanmoins, bien que le rôle vital du PDGF dans la minéralisation des tissus soit indéniable, une libération exogène continue du PDGF inhibe la cémentogenèse [119].

Compte tenu de la grande capacité de régénération du PDGF, de nombreux groupes de recherche ont utilisé le PDGF en association avec des biomatériaux dans des études précliniques.

3.3.2 BMP (Bone morphogenetic proteins)

Les BMP constituent un groupe unique de protéines de signalisation appartenant à la superfamille du TGF- β .

Une recherche bibliographique approfondie a révélé l'importance des BMP dans la signalisation cellulaire pour la différenciation des odontoblastes et la stimulation de la formation de dentine réactionnelle, d'où leur nécessité pour la régénération dentaire [120]. Les BMP sont considérées comme des facteurs ostéoinducteurs qui ont la capacité de réguler la formation des os et de la dentine [121]. L'analyse systémique de l'expression des BMP montre différentes fonctions au cours de la morphogenèse dentaire, ainsi que des profils d'expression temporels et spatiaux concomitants [122].

Elles jouent un rôle important dans l'ingénierie des tissus dentaires tout au long des différentes étapes morphologiques de la génération des dents, de l'initiation du développement dentaire à la formation de la matrice. BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7

et Gdf11 sont détectées lors de la différenciation des odontoblastes, et BMP-4 et BMP-5 lors de la différenciation des améloblastes [122,123].

BMP-2 et -7 partagent un modèle d'expression similaire. Elles sont exprimées dans l'épithélium dentaire et le nœud d'émail [113]. Cependant, BMP-2 (mais pas BMP-7) est nécessaire pour induire la différenciation des DPSC en odontoblastes [124].

La présence de récepteurs BMP, BMPR-IA, BMPR-IB et BMP-II sur les cellules de la pulpe dentaire permettent à ces cellules de réagir puissamment aux signaux médiés par les BMP [125].

La différenciation de diverses cellules souches en lignées dentaires nécessite une interaction épithélio-mésenchymateuse. Cependant, l'utilisation de facteurs de croissance et de substrats appropriés pourrait éliminer le besoin de cette interaction. Selon les recherches, les BMP-2, -4 et -7 sont utilisées pour la communication et la signalisation entre les cellules épithéliales et mésenchymateuses [113].

Ozeki *et al.* [126] ont réussi à différencier des iPSC de souris en cellules semblables à des odontoblastes dans un *scaffold* en BMP-4 / collagène.

3.3.3 TGF (Transforming Growth Factors)

Les effecteurs du TGF- β sont impliqués dans la formation de la dentine et la protection de la pulpe par l'expression des récepteurs TGF- β I et II dans les odontoblastes et les cellules pulpaire [24]. Il intervient dans diverses fonctions telles que la différenciation des odontoblastes, la synthèse de la MEC et la minéralisation de la matrice, mais le mécanisme moléculaire exact n'a pas encore été clairement élucidé.

Il a été suggéré que le TGF- β stimule la formation de matrice dentinaire avec la signalisation BMP et Wnt [127]. La présence de diverses isoformes de TGF- β détectées dans les tissus de molaires humaines saines et cariées montre que le TGF- β 3 présente le niveau le plus élevé dans les tissus sains alors que le TGF- β 1 présente l'intensité la plus faible, et inversement dans les tissus atteints [128].

L'effet stimulant du TGF- β associé aux *scaffolds* a été étudié avec la prolifération des odontoblastes et la formation de dentine dans les cellules de la pulpe dentaire, *in vitro* et *in vivo* [129]. L'apparition de cellules ressemblant à des odontoblastes et de nodules de calcification dans des groupes contenant du TGF- β a confirmé le rôle positif du TGF- β dans la culture *in vitro*. Les chercheurs ont observé un dépôt de matrice de dentine tubulaire 3 mois après l'implantation d'un *scaffold* sous la capsule rénale d'un rat [129]. De même, le TGF- β incorporé dans le chitosan a généré plus de dentine réactionnelle que les témoins dans un modèle de pulpe de chien [83].

3.3.4 IGF (Insulin-like Growth Factor)

Les IGF sont présents à différentes intensités au cours des différentes étapes du développement dentaire [130]. Les IGF-1 et -2 sont des membres de la famille des IGF composés d'une seule chaîne polypeptidique et reconnus par les récepteurs de l'IGF.

Les IGF ont le potentiel d'induire la prolifération et la différenciation des cellules de la pulpe dentaire [131]. L'IGF-1 favorise la prolifération et la différenciation odontogène des DPSC humains (hDPSC) par l'activation des voies MAPK [132].

Des recherches ont porté sur l'impact des IGF sur la croissance et la différenciation des cellules de la pulpe dentaire dans des conditions de culture sans sérum [133].

Les auteurs ont montré que les cellules pulpaire subissent une différenciation en cellules ressemblant à des odontoblastes en culture sans sérum.

Wang *et al.* ont rapporté une influence différente des IGF sur les cellules souches de la papille apicale (SCAP). Les résultats de cette étude ont indiqué que les IGF entraînaient la différenciation ostéogénique des SCAP et réduisaient leurs capacités odontogènes [134].

Les facteurs de croissance sont donc un élément important de l'ingénierie tissulaire des tissus dentaires et il est nécessaire de mener davantage de recherches à ce niveau-là pour comprendre le schéma complet de ces facteurs de croissance au cours de l'odontogénèse pour arriver un jour à une régénération dentaire parfaite *in vitro* et *in vivo*.

4 Recréer une dent : techniques et stratégies

4.1 Résumé de l'embryologie de l'organe dentaire

La dent résulte d'interactions réciproques entre les cellules épithéliales et mésenchymateuses du premier arc du pharynx [135]. L'épithélium dentaire et les cellules mésenchymateuses proviennent respectivement de l'ectoderme et de la crête neurale crânienne.

L'odontogenèse est un processus continu qui peut être divisé en plusieurs stades de développement distincts : lame dentaire, bourgeon dentaire, capuchon dentaire, cloche dentaire et cloche tardive (figure 8) [113].

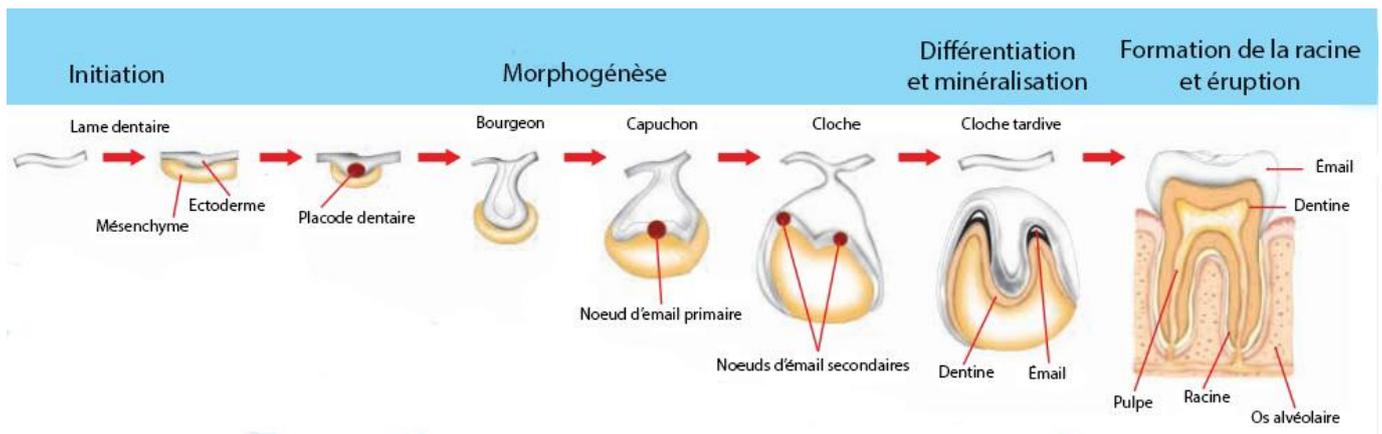


Figure 8: les différentes étapes du développement de la dent (adapté du schéma de Thelself [113])

L'épithélium dentaire sur le site des futures dents augmente d'abord en épaisseur pour restreindre latéralement la zone de formation des dents et forme la lame dentaire. L'épaississement local de l'épithélium conduit à la formation d'un placode dentaire au niveau de la lame dentaire [136]. Le petit groupe de cellules placodales, en tant que centre de signalisation précoce, exprime les molécules de signalisation pour réguler la formation de bourgeons dentaires [137].

Les cellules épithéliales orales prolifèrent et subissent une invagination dans la région mésenchymateuse pour former un bourgeon dentaire. La prolifération des cellules épithéliales dans le bourgeon se prolonge de manière inégale dans ses différentes parties pour générer le capuchon et les structures en forme de cloche qui en découlent, appelées organes de l'émail et entourant la papille dentaire mésenchymateuse.

À partir du stade de capuchon, les cellules épithéliales se séparent en quatre types différents : l'épithélium interne de l'émail (IEE), l'épithélium externe de l'émail (OEE), le *stratum intermedium* et le réticulum en étoile [138].

L'IEE donne finalement naissance à des améloblastes produisant de l'émail. À ce stade, les nœuds primaires d'émail se forment dans l'IEE. Le nœud d'émail est un réservoir de gènes liés à la voie de signalisation qui permet à la morphogenèse dentaire de progresser vers le stade de la cloche et de réguler la forme de la dent [136].

Les signaux libérés par le nœud d'émail stimulent la croissance de l'épithélium basal pour former des boucles cervicales qui finissent par s'engager dans les racines.

Au stade de la cloche, la croissance et le repliement du germe dentaire déterminent la forme de la couronne en fonction du motif spécifique de la pointe de la cuspide [137].

Dans les dents à une seule cuspide, le nœud d'émail primaire forme la couronne dentaire, alors que dans les molaires multicuspidiennes, le nœud d'émail secondaire apparaît à l'emplacement des futures pointes des cuspides [137].

Au stade de la différenciation, les améloblastes et les odontoblastes produisent une matrice organique de dentine et d'émail qui, à son tour, se minéralise pour figer la forme de la dent. L'épithélium interne et externe de l'émail forment la gaine épithéliale de Hertwig (GEH), située entre la papille et le follicule dentaire [139].

La prolifération et la migration de la GEH vers le bas oriente la formation des racines et induit les cellules souches de la papille dentaire (DPC) adjacentes à la couche épithéliale interne de la GEH à se différencier en odontoblastes qui forment la dentine radiculaire. La GEH se désintègre ensuite, créant une structure en forme de maille appelée restes de cellules épithéliales de Malassez.

Certaines des cellules de la GEH situées près de la jonction ciment-émail subissent une apoptose induite par les cellules du follicule dentaire [140]. Cette structure permet aux cellules du follicule dentaire de créer un contact avec la dentine radiculaire et de se différencier vers une lignée cimentoblastique. Simultanément, les cellules du follicule dentaire sécrètent des fibres de collagène dans le ciment et fixent la racine dans l'os de la mâchoire [139].

4.2 Régénération d'une dent complète

La création de dents à l'aide de l'ingénierie tissulaire nécessite la génération synchronisée de la couronne, de la racine et du ligament parodontal. Afin de créer une dent fonctionnelle en bio-ingénierie, le processus naturel de formation du germe dentaire par le biais de l'interaction entre l'épithélium et le mésenchyme doit être imité. Des recherches ont montré que n'importe quelle cellule mésenchymateuse ou épithéliale ne peut pas régénérer de manière indépendante des structures dentaires appropriées [141].

Jusqu'à présent, deux stratégies principales sont en cours de développement pour reconstituer une dent : la transplantation chez l'hôte de constructions cellules / *scaffolds* préparées *in vitro* [142] et la recréation du développement embryonnaire de dents naturelles par implantation de cellules souches [143] (figure 9).

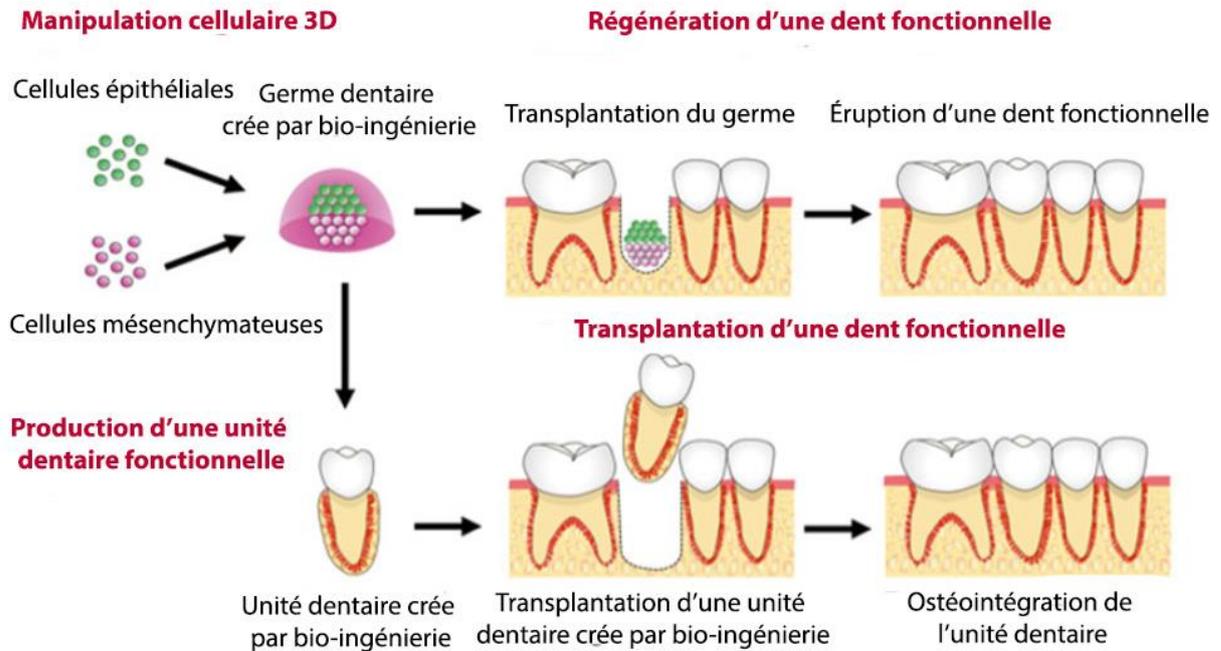


Figure 9 : stratégies pour remplacer une dent par ingénierie tissulaire. Des dents pleinement fonctionnelles peuvent être régénérées *in vivo* par la transplantation de germes de dent créés par ingénierie tissulaire, ou d'unités dentaires développées par bio ingénierie (Adapté d'après le schéma d'Oshima [144])

Nous allons voir ici les techniques et procédés de manipulation des cellules qui pourraient nous permettre d'obtenir de nouvelles dents chez l'homme.

4.2.1 Utilisation de *scaffolds* biodégradables

Comme nous l'avons vu précédemment dans toute la partie 2, les *scaffolds* ont contribué à la régénération à grande échelle des tissus endommagés par l'ensemencement de cellules souches sur des matériaux biodégradables tels que des molécules naturelles et des polymères synthétiques.

Young *et al.* [102] ont été les premiers à produire des dents modifiées par ingénierie tissulaire avec cette technique. Les chercheurs ont cultivé des cellules du bourgeon dentaire de la troisième molaire de porc dissociées par voie enzymatique sur divers *scaffolds* pour permettre des interactions épithélio-mésenchymateuses entre les cellules, puis les ont implantés entre les deux feuillets du péritoine de rats. Les analyses histologiques et moléculaires des *scaffolds* implantés ont montré une structure dentaire reconnaissable composée de dentine, d'émail et de la GEH, 35 semaines après l'implantation (figure 10). Cependant, les dents régénérées étaient

assez petites et 85% des tissus nouvellement formés présentait des morphologies dentaires irrégulières [145].

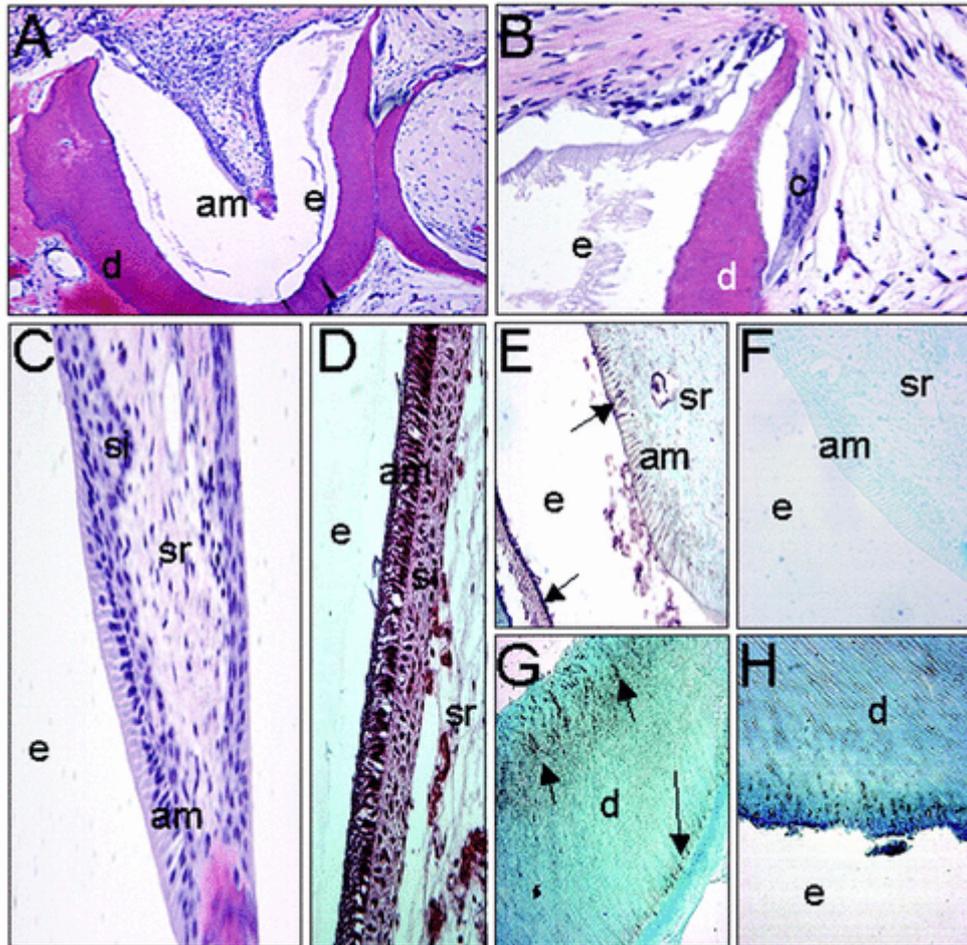


Figure 10: histologie et immunohistochimie d'une unité dentaire de 30 semaines. (A) Structures de dentine et d'émail dans un tissu dentaire bio-conçu de 30 semaines marqués à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) (50X). (B) Coloration H&E de la dentine, de l'émail et de cellules cémentaires (400X). (C) Coloration H&E des cellules des organes de l'émail (400X). (D) Coloration H&E des cellules des organes de l'émail d'une troisième molaire porcine (400X). (E) Expression de l'amélogénine dans les améloblastes et l'émail. (400X). (F) Contrôle pré-immun négatif pour l'immunocoloration à l'amélogénine (400X). (G) Expression de la sialoprotéine osseuse (BSP) dans la dentine (400X). La surexpression de BSP est indiquée par des flèches. (H) Expression de BSP dans la dentine d'une troisième molaire porcine (400X). Abréviations : am, améloblaste; d, dentine; si, stratum intermedium; sr, réticulum étoilé. (adapté de la figure de Young et al. [102])

Différents paramètres tels que les matériaux pour la construction du *scaffold* et les contraintes mécaniques ont également été examinés dans le but d'améliorer le taux de réussite de la régénération dentaire [76,146].

Des études utilisant des éponges de collagène / gélatine ou des copolymères d'acide polyglycolique / poly-L-lactate-co-glycolide (PLA / PLGA) ont montré la génération partielle de la structure du tissu dentaire par ensemencement de cellules épithéliales et mésenchymateuses isolées [76,78,102,147,148].

Cette méthode basée sur l'utilisation d'un *scaffold* peut être pratique pour contrôler la forme et la taille de la dent. Cependant, il y a des problèmes fondamentaux concernant la régénération de la dent elle-même qui n'ont pas encore été résolus. En effet la présence de matériau résiduel du *scaffold* après une transplantation *in vivo* est considérée comme étant un problème. Les reliquats peuvent causer une irrégularité de structure des tissus dentaires [102,147].

La génération complète de la structure dentaire appropriée à l'aide de *scaffolds* nécessite la formation de jonctions complexes entre l'émail, la dentine et le ciment résultant d'un positionnement spatio-temporel cellulaire précis des ameloblastes, des odontoblastes et des cémentoblastes à l'image du développement naturel des dents [23,149].

Malgré tout cela, les *scaffolds* ensemencés par des cellules souches restent une voie très prometteuse pour la régénération de tissus dentaires et les recherches continuent pour trouver les matériaux qui y seront le plus propice.

4.2.2 Utilisation de la méthode d'agrégation cellulaire

La méthode d'agrégation cellulaire est connue en tant que protocole de bio-ingénierie typique utilisé pour la reconstitution d'un germe d'organe afin de reproduire les interactions épithélio-mésenchymateuses qui se produisent pendant l'organogenèse [23].

Des études antérieures ont montré que la transplantation d'agrégats de cellules d'origine ectodermique, tels que le follicule pileux et la glande mammaire, entraîne la régénération *in vivo* de chaque organe avec la structure tissulaire et les arrangements cellulaires appropriés [150,151].

Il a été rapporté que des agrégats de cellules souches épithéliales et mésenchymateuses dentaires obtenus par centrifugation ont un potentiel de formation de germes dentaires après une transplantation *in vivo* [152,153].

En 2003, Yamamoto *et al.* [152] ont montré la capacité des cellules issues de germe des dents embryonnaires à se réagglomérer après la dissociation et à former des dents. D'autres études ont suivi, dans lesquelles les tissus épithéliaux et mésenchymateux des germes de la dent de souris étaient séparés et les cellules dissociées puis recombinaées pour former des dents normales [142,143].

En 2004, une étude de Ohazama *et al.* [154] a montré que des cellules mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse adulte combinées à de l'épithélium dentaire embryonnaire au stade inductif entraînent la formation d'une dent.

En 2007 Nakao *et al.* ont développé une méthode de culture tridimensionnelle de germes d'organes. Ce germe dentaire créé par ingénierie tissulaire a généré une dent structurellement correcte après culture *in vitro* puis une transplantation *in vivo* dans une cavité dentaire. Ce germe montre des signes de vascularisation et d'innervation [149].

Une autre étude réalisée en 2013 par Volponi *et al.* [155] a montré que les cellules épithéliales gingivales humaines étaient capables de répondre au signal inductif du mésenchyme embryonnaire de la dent de souris, ce qui entraînait la formation de dents complètes.

En 2017, Ono *et al.* ont réutilisé la méthode de Nakao *et al.* [149] pour créer un germe de dent par bio-ingénierie à partir de cellules épithéliales et mésenchymateuses dissociées puis recombinaées avant d'être implantées chez un chien (figure 11) [156]. Après transplantation du germe, ils ont obtenu l'éruption d'une dent totalement fonctionnelle avec des tissus durs et mous attenants identiques aux dents adjacentes. Après l'éruption, les chercheurs ont posé des bagues et exercé des forces orthodontiques sur cette dent. Les résultats ont montré que le ligament parodontal de cette dent induisait un déplacement correct sans que celle-ci s'ankylose [156].

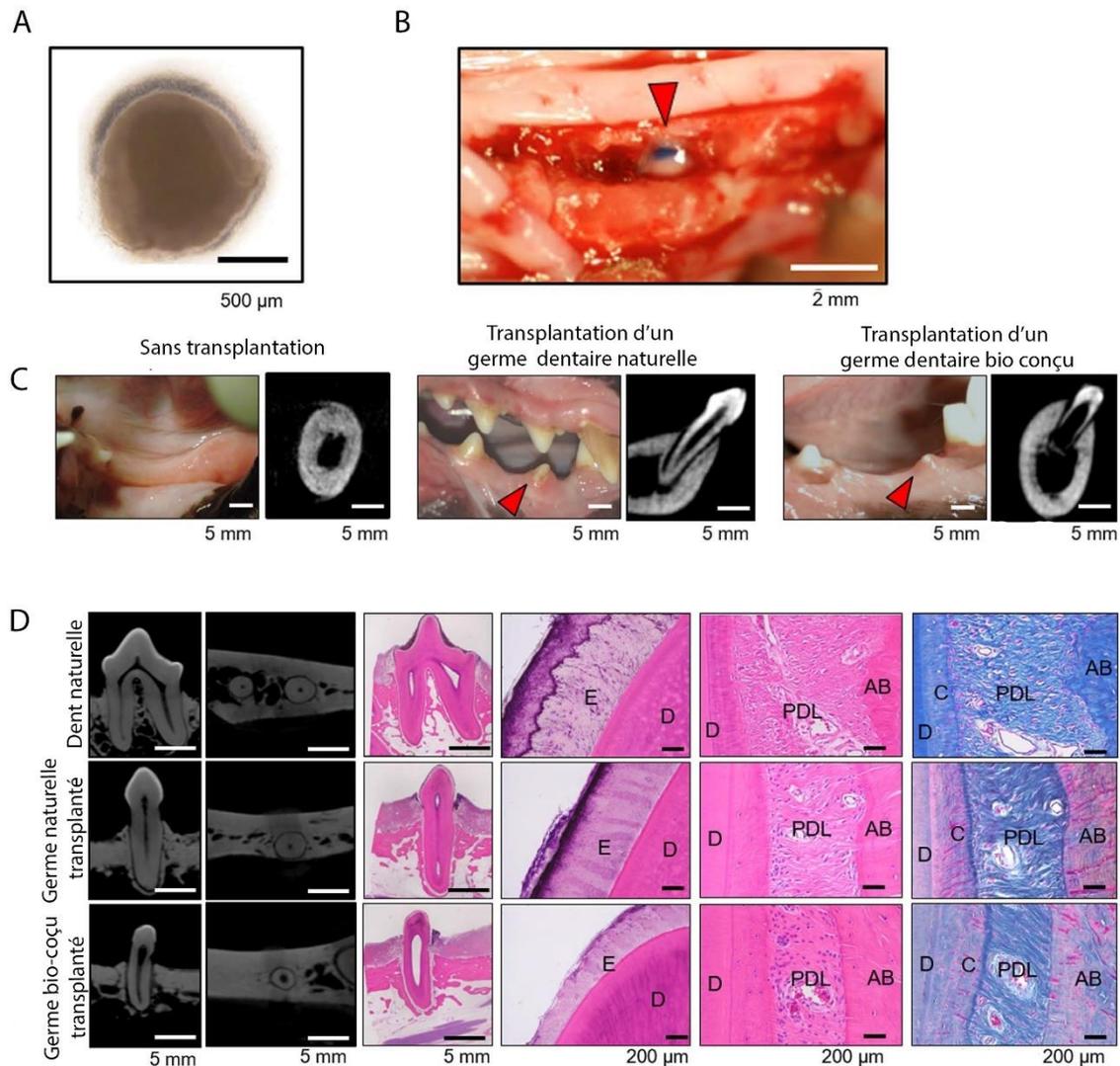


Figure 11: comparaison du développement d'un germe dentaire bio-conçu transplanté par rapport à une dent naturelle et d'un germe naturelle transplanté. (A) Image en contraste de phase du germe bio-conçu. (B) Photographie de la transplantation autologue du germe bio-conçu dans la mâchoire inférieure d'un chien. (C) Photographies intra-orales et images tomographiques : pas de transplantation (à gauche), transplantation d'un germe dentaire naturel de la dent issue de l'ingénierie biologique à 180 jours après la transplantation (au centre) et transplantation d'un germe bio-conçu à 180 jours après la transplantation (à droite). (D) Images micro-CT et analyse histologique d'un groupe de dents naturelles (en haut), transplantation d'un germe de dent naturelle (au milieu) et transplantation d'un germe bio-conçu (en bas). Abréviations : E, émail; D, dentine; C, ciment; PDL, ligament parodontal; AB, os alvéolaire. (adapté de la figure d'Ono et al. [156])

4.2.3 Récapitulatif des études importantes de régénération dentaire

Pour tout résumer, nous avons regroupé ici dans le tableau suivant (tableau 1) les études majeures qui ont tenté de recréer une dent par les différentes méthodes que nous avons vu précédemment.

Année	Origine des cellules	Scaffold	Site d'implantation	Résultats	Référence
2002	Germe de molaire de porc	PLGA	Omentum de rat	Structures dentaires reconnaissables composés de dentine, d'organe d'émail, et de la GEH en 35 semaines	Young <i>et al.</i> [102]
2004	Cellules de germe dentaire de rat	PGA PLGA	Omentum de rat	Dent mature composée de dentine, pulpe et émail après 12 semaines	Duailibi <i>et al.</i> [157]
2004	Moelle osseuse, épithélium oral embryonnaire de souris	Sans scaffold	Capsule rénale de souris	Couronne dentaire avec de l'os alvéolaire et de la gencive	Ohazama <i>et al.</i> [154]
2005	Germe de molaire de porc	PGA	Omentum de rat	Dent comportant de l'émail, de la dentine et du ciment	Honda <i>et al.</i> [99]
2005	Germe de molaire de porc	PGA PLGA	Omentum de rat	Dent comportant une épaisse couche d'émail, de la dentine, des odontoblastes et du tissu pulpaire	Young <i>et al.</i> [145]
2006	Germe de molaire de porc	Eponge de collagène	Omentum de rat	Formation d'émail et de dentine	Honda <i>et al.</i> [146]
2006	Germe de molaire de chien	PGA	Mâchoire de chien	Formation de dentine et d'os, sans émail ni de ciment	Honda <i>et al.</i> [100]
2006	Germe de molaire de souris	PGA	Capsule rénale de souris	Dent régénérée avec une couronne de forme normale, mais de petite taille	Iwatsuki <i>et al.</i> [101]
2006	Germe de molaire de porc	Collagène PGA	Omentum de rat	Meilleure morphologie de la dent régénérée par l'utilisation du collagène en scaffold	Sumita <i>et al.</i> [76]
2007	Germe d'incisive de souris	Sans scaffold	Capsule sub-rénale de souris	Dent complète régénérée par l'implantation d'un germe de dent reconstituée par bio-ingénierie	Nakao <i>et al.</i> [149]
2008	Germe de molaire de rat	PGA/PLLA PLGA	Mâchoire de souris	Formation de plusieurs petites couronnes constituées d'émail, dentine, pulpe et de tissus parodontaux	Duailibi <i>et al.</i> [158]
2009	Germe de molaire de porc, hDPSCs, cellules épithéliales gingivales	Sans scaffold	Mâchoire de souris	Dent fonctionnelle avec une dureté suffisante pour la mastication, réponse fonctionnelle au stress mécanique dans la mâchoire de la souris	Ikeda <i>et al.</i> [143]
2011	Germe de molaire de souris	Sans scaffold	Mâchoire de souris	Formation de dents matures de structure correcte, avec du tissu parodontal et régénération d'os alvéolaire. Sensible aux stimuli mécaniques et sensitifs	Oshima <i>et al.</i> [142]
2013	Germe de molaire de souris, cellules épithéliales de gencive humaine	Sans scaffold	Capsule rénale de souris	Formation d'une dent constituée de dentine, d'émail et de cellules améloblastiques	Volponi <i>et al.</i> [155]
2017	Germe de prémolaire de chien	Sans scaffold	Mâchoire de chien	Eruption d'une dent constituée d'émail, dentine, pulpe, ciment et ligament parodontal, après implantation d'un germe créé par bio-ingénierie.	Ono <i>et al.</i> [156]

Tableau 1 : tableau récapitulatif des études importantes en régénération dentaire totale

4.2.4 Limites et obstacles

De nombreux chercheurs ont tenté de générer un germe de dent en utilisant des cellules épithéliales et mésenchymateuses à partir de germe de dents d'embryon [152,153] ou de germe de dents postnatales [78,102,148,157,158] chez diverses espèces, notamment les souris, les rats et les porcs.

Mais malgré le fait que les cellules souches adultes puissent répondre à un signal odontogène inductif et participer à la formation de la dent, les seules cellules qui se sont révélées capables d'une capacité inductive sont des cellules embryonnaires odontogènes, dérivées de tissus de germes dentaires embryonnaires ou post natal (épithéliales ou mésenchymateuses) [23,159–161].

Ceci définit l'un des plus grands défis dans le domaine de l'ingénierie tissulaire dentaire, qui consiste à identifier les populations de cellules adultes qui conservent leur potentiel odontogénique et peuvent être cultivées en grand nombre. De plus, ces cellules devraient idéalement être allogéniques pour éviter les problèmes de rejet.

Pour pouvoir être capable dans le futur de remplacer des dents par ingénierie tissulaire, il est important d'identifier les sources de cellules appropriées. À l'heure actuelle, le germe immature de dent de sagesse (troisième molaire) chez un jeune patient est considéré comme un candidat potentiel pour la reconstruction du germe de dent par bio-ingénierie. Généralement le germe de dent de sagesse commence à se minéraliser entre 7 et 10 ans. Par conséquent, les cellules souches épithéliales / mésenchymateuses, qui peuvent reproduire le développement du germe dentaire, sont disponibles dans la mâchoire postnatale [162].

Dans les cas cliniques d'absence congénitale ou de perte accidentelle des germes de dents au cours de la croissance, ces cellules souches dérivées de germes de dents de sagesse ont un potentiel d'utilisation considérable. L'étude d'Ono *et al.* [156] a décrit un remplacement total d'une dent en utilisant des cellules germinales postnatales. Si une culture à grande échelle de cellules germinales épithéliales / mésenchymateuses devait être établie à l'avenir, cette technologie de dent bio-modifiée serait en mesure de traiter un grand nombre de dents manquantes.

Les patients âgés, cependant, ne possèdent plus de germe dentaire en développement qui puisse être utilisé.

Les cellules souches pluripotentes, y compris les cellules ESC et les cellules iPS, sont également des sources de cellules candidates capables de se différencier en cellules endodermiques, ectodermiques et mésodermiques [163]. Récemment, des sources de cellules iPS ont été décelées, dans plusieurs tissus buccaux tels que la pulpe, le ligament parodontal, la gencive et la muqueuse buccale [163]. Ces cellules induites peuvent se différencier en cellules épithéliales et mésenchymateuses dentaires [164,165]. Chez les patients âgés qui n'ont pas de germe dentaire ces cellules pourraient être utilisées.

Néanmoins des études supplémentaires permettant d'identifier d'autres sources de cellules souches en vue de la reconstitution d'un germe d'une dent bio-modifiée, ou utilisées pour générer des dents à l'aide de *scaffold in vitro* sont encore nécessaires avant de pouvoir envisager un traitement de régénération complète d'une dent chez l'homme.

Un des autres problèmes de ces techniques est l'utilisation de facteurs de croissance qui ne sont pas sans danger. En effet ces derniers vont favoriser une multiplication des cellules avec un risque de croissance incontrôlée, ce qui pourrait présenter un risque carcinogénique.

Les tissus créés peuvent également présenter un danger pour les tissus sains environnants comme par exemple le nerf alvéolaire inférieure qui pourrait se retrouver comprimé ou sectionné si la croissance n'est pas parfaitement maîtrisée.

L'autre grand problème qui se pose est d'ordre financier. En effet pour le moment le remplacement d'une dent manquante par un implant est une solution qui est simple et qui présente un coût de fabrication très économique par rapport au coût qu'engendrerait la fabrication d'un germe de dent bio-conçue avec des cellules autologues.

5 Conclusion

Bien que les prothèses dentaires fixes implanto-portées et amovibles soient toujours le traitement de référence de remplacement des dents, les complications associées poussent à innover et apporter de nouvelles solutions. La découverte des cellules souches d'origine dentaire permet aux chercheurs de recréer des tissus dentaires et donne l'espoir d'être un jour capable de recréer totalement un organe dentaire.

Nous avons vu qu'avec la découverte des différentes sources de cellules souches facilement accessibles et les progrès dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, il est désormais possible de recréer une unité dentaire semblable à une dent naturelle. Néanmoins, jusqu'à maintenant, ces expériences se limitent aux animaux et il est difficile d'extrapoler les résultats chez l'homme. Le devenir et le comportement de ces cellules à long terme est également un sujet sur lequel il faut se pencher avant que des essais cliniques sur l'homme soient réalisables.

L'autre problème à surmonter reste la cryopréservation de ces cellules souches d'origine dentaire. Pour que des thérapeutiques de régénération dentaires puissent être mises en place, il faut que ces cellules soient préservées dans des banques biologiques afin de pouvoir être utilisées au moment voulu. Néanmoins, les biobanques, bien qu'autorisées dans certains pays européens, sont toujours interdites en France. Il faudra donc que les lois de bioéthiques soient revues et modifiées pour que cela devienne possible.

Le domaine de la recherche en bio-ingénierie a montré des avancés très prometteuses. Cependant, les efforts de recherche actuels doivent être orientés vers les défis et les limitations qui bloquent actuellement notre capacité à créer de manière fiable des dents biologiques de remplacement.

Néanmoins, des réalisations récentes indiquent que, malgré le fait que les dents sont des organes complexes composés d'une grande variété de tissus mous et durs, la bio-ingénierie d'une dent complète pour le remplacement de la dent humaine est effectivement possible et pourrait constituer l'avenir de la dentisterie.

Références bibliographiques

- [1] Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, et al. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review. *Journal of Clinical Periodontology* 2017;44:S94–S105.
- [2] Levin L. Dealing with dental implant failures. *J Appl Oral Sci* 2008;16:171–175.
- [3] Jain KK. Ethical and regulatory aspects of embryonic stem cell research. *Expert Opinion on Biological Therapy* 2002;2:819–826.
- [4] O’Donoghue K, Fisk NM. Fetal stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:853–875.
- [5] Tsai M-S, Lee J-L, Chang Y-J, et al. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two-stage culture protocol. *Hum Reprod* 2004;19:1450–1456.
- [6] De Coppi P, Bartsch G, Siddiqui MM, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nature Biotechnology* 2007;25:100–106.
- [7] Insausti CL, Blanquer M, Bleda P, et al. The amniotic membrane as a source of stem cells. *Histol Histopathol* 2010;25:91–98.
- [8] Gordon Betts J, Desaix P, Johnson E, et al. *Anatomy and Physiology* - OpenStax College. Openstax, 2013.
- [9] Condic ML. Totipotency: What It Is and What It Is Not. *Stem Cells Dev* 2014;23:796–812.
- [10] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663–676.
- [11] Zhou H, Wu S, Joo JY, et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* 2009;4:381–384.
- [12] Chalisserry EP, Nam SY, Park SH, et al. Therapeutic potential of dental stem cells. *J Tissue Eng* 2017;8.
- [13] Smith AJ, Cassidy N, Perry H, et al. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 2003;39:273–280.
- [14] Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *PNAS* 2000;97:13625–13630.
- [15] Gronthos S, Brahimi J, Li W, et al. Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells. *J Dent Res* 2002;81:531–535.

- [16] d'Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M, et al. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death and Differentiation* 2007;14:1162–1171.
- [17] Koyama N, Okubo Y, Nakao K, et al. Evaluation of Pluripotency in Human Dental Pulp Cells. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2009;67:501–506.
- [18] Urraca N, Memon R, El-Iyachi I, et al. Characterization of Neurons from Immortalized Dental Pulp Stem Cells for the Study of Neurogenetic Disorders. *Stem Cell Res* 2015;15:722–730.
- [19] Miura M, Gronthos S, Zhao M, et al. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *PNAS* 2003;100:5807–5812.
- [20] Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, et al. Dental Pulp Tissue Engineering with Stem Cells from Exfoliated Deciduous Teeth. *Journal of Endodontics* 2008;34:962–969.
- [21] Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, et al. Stem Cell Proliferation Pathways Comparison between Human Exfoliated Deciduous Teeth and Dental Pulp Stem Cells by Gene Expression Profile from Promising Dental Pulp. *Journal of Endodontics* 2009;35:1536–1542.
- [22] Sakai VT, Zhang Z, Dong Z, et al. SHED Differentiate into Functional Odontoblasts and Endothelium. *J Dent Res* 2010;89:791–796.
- [23] Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in Cell Biology* 2010;20:715–722.
- [24] Sloan AJ, Matthews JB, Smith AJ. TGF- β Receptor Expression in Human Odontoblasts and Pulpal Cells. *Histochem J* 1999;31:565–569.
- [25] Woods EJ, Perry BC, Hockema JJ, et al. Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use. *Cryobiology* 2009;59:150–157.
- [26] Huang GT-J, Sonoyama W, Liu Y, et al. The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin Regeneration and BioRoot Engineering. *Journal of Endodontics* 2008;34:645–651.
- [27] Sonoyama W, Liu Y, Fang D, et al. Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine. *Plos One* 2006;1:e79.
- [28] Ten Cate AR. The development of the periodontium--a largely ectomesenchymally derived unit. *Periodontol* 2000 1997;13:9–19.
- [29] Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology : Development, Structure, and Function*. 7th ed. St. Louis : Elsevier Health Sciences, 2007.
- [30] Handa K, Saito M, Tsunoda A, et al. Progenitor Cells From Dental Follicle Are Able to Form Cementum Matrix In Vivo. *Connective Tissue Research* 2002;43:406–408.

- [31] Lin N-H, Gronthos S, Bartold PM. Stem cells and periodontal regeneration. *Australian Dental Journal* 2008;53:108–121.
- [32] McCulloch CA, Melcher AH. Cell density and cell generation in the periodontal ligament of mice. *Am J Anat* 1983;167:43–58.
- [33] Gay IC, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res* 2007;10:149–160.
- [34] Seo B-M, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004;364:149–155.
- [35] Matsubara T, Suardita K, Ishii M, et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 2005;20:399–409.
- [36] Pekovits K, Kröpfl JM, Stelzer I, et al. Human mesenchymal progenitor cells derived from alveolar bone and human bone marrow stromal cells: a comparative study. *Histochem Cell Biol* 2013;140:611–621.
- [37] Ikeda E, Yagi K, Kojima M, et al. Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation* 2008;76:495–505.
- [38] Yalvac ME, Ramazanoglu M, Rizvanov AA, et al. Isolation and characterization of stem cells derived from human third molar tooth germs of young adults: implications in neo-vascularization, osteo-, adipo- and neurogenesis. *Pharmacogenomics J* 2010;10:105–113.
- [39] Mitrano TI, Grob MS, Carrión F, et al. Culture and characterization of mesenchymal stem cells from human gingival tissue. *J Periodontol* 2010;81:917–925.
- [40] Du L, Yang P, Ge S. Isolation and characterization of human gingiva-derived mesenchymal stem cells using limiting dilution method. *Journal of Dental Sciences* 2016;11:304–314.
- [41] Tang L, Li N, Xie H, et al. Characterization of mesenchymal stem cells from human normal and hyperplastic gingiva. *J Cell Physiol* 2011;226:832–842.
- [42] Ferrúa CP, Centeno EGZ, Rosa LC da, et al. How has dental pulp stem cells isolation been conducted? A scoping review. *Braz Oral Res* 2017;31.
- [43] Tirino V, Paino F, d’Aquino R, et al. Methods for the Identification, Characterization and Banking of Human DPSCs: Current Strategies and Perspectives. *Stem Cell Rev and Rep* 2011;7:608–615.
- [44] Perry BC, Zhou D, Wu X, et al. Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use. *Tissue Eng Part C Methods* 2008;14:149–156.
- [45] Breton AL, Hervé C, Pirnay P. Informations et consentement au cours de soins dentaires associés à la recherche biomédicale. *Sante Publique* 2013;Vol. 25:803–812.

- [46] Sunil PM, Manikandan R, Muthumurugan, et al. Harvesting dental stem cells - Overview. *J Pharm Bioallied Sci* 2015;7:S384–S386.
- [47] Karamzadeh R, Eslaminejad MB, Aflatoonian R. Isolation, Characterization and Comparative Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells Derived from Permanent Teeth by Using Two Different Methods. *J Vis Exp* 2012.
- [48] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8:315–317.
- [49] La Noce M, Paino F, Spina A, et al. Dental pulp stem cells: State of the art and suggestions for a true translation of research into therapy. *Journal of Dentistry* 2014;42.
- [50] Gronthos S, Arthur A, Bartold PM, et al. A method to isolate and culture expand human dental pulp stem cells. *Methods Mol Biol* 2011;698:107–121.
- [51] Huang GT-J, Sonoyama W, Chen J, et al. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res* 2006;324:225–236.
- [52] Tirino V, Paino F, Rosa A, et al. Identification, Isolation, Characterization, and Banking of Human Dental Pulp Stem Cells. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)* 2012;879:443–463.
- [53] Viña-Almunia J, Borrás C, Gambini J, et al. Influence of different types of pulp treatment during isolation in the obtention of human dental pulp stem cells. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2016;21:e374–e379.
- [54] Couble M-L, Farges J-C, Bleicher F, et al. Odontoblast Differentiation of Human Dental Pulp Cells in Explant Cultures. *Calcif Tissue Int* 2000;66:129–138.
- [55] Hilkens P, Gervois P, Fanton Y, et al. Effect of isolation methodology on stem cell properties and multilineage differentiation potential of human dental pulp stem cells. *Cell Tissue Res* 2013;353:65–78.
- [56] Priya N, Sarcar S, Majumdar AS, et al. Explant culture: a simple, reproducible, efficient and economic technique for isolation of mesenchymal stromal cells from human adipose tissue and lipoaspirate. *J Tissue Eng Regen Med* 2014;8:706–716.
- [57] Radisic M, Iyer RK, Murthy SK. Micro- and nanotechnology in cell separation. *Int J Nanomedicine* 2006;1:3–14.
- [58] Zhu B, Murthy SK. Stem Cell Separation Technologies. *Curr Opin Chem Eng* 2013;2:3–7.
- [59] Berger M, Castelino J, Huang R, et al. Design of a microfabricated magnetic cell separator. *Electrophoresis* 2001;22:3883–3892.
- [60] Chen G, Yue A, Ruan Z, et al. Comparison of the Effects of Different Cryoprotectants on Stem Cells from Umbilical Cord Blood. *Stem Cells Int* 2016;2016.

- [61] Morris C, de Wreede L, Scholten M, et al. Should the standard dimethyl sulfoxide concentration be reduced? Results of a European Group for Blood and Marrow Transplantation prospective noninterventional study on usage and side effects of dimethyl sulfoxide. *Transfusion* 2014;54:2514–2522.
- [62] Hunt CJ, Armitage SE, Pegg DE. Cryopreservation of umbilical cord blood: 2. Tolerance of CD34(+) cells to multimolar dimethyl sulphoxide and the effect of cooling rate on recovery after freezing and thawing. *Cryobiology* 2003;46:76–87.
- [63] Naaldijk Y, Staude M, Fedorova V, et al. Effect of different freezing rates during cryopreservation of rat mesenchymal stem cells using combinations of hydroxyethyl starch and dimethylsulfoxide. *BMC Biotechnology* 2012;12:49.
- [64] Hofman V, Selva E, Chabannon C, et al. Les biobanques en France : enjeux et contraintes. *Revue Francophone Des Laboratoires* 2010;2010:67–72.
- [65] Cour administrative d'appel de Lyon, 4 juillet 2013, n°12LY01188 et 12LY01194.
- [66] Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;260:920–926.
- [67] Chick WL, Like AA, Lauris V. Beta cell culture on synthetic capillaries: an artificial endocrine pancreas. *Science* 1975;187:847–849.
- [68] Burke J, Yannas I, Quinby W, et al. Successful Use of a Physiologically Acceptable Artificial Skin in the Treatment of Extensive Burn Injury. *Annals of Surgery* 1981;194:413–428.
- [69] Dutta RC, Dutta AK. Cell-interactive 3D-scaffold; advances and applications. *Biotechnol Adv* 2009;27:334–339.
- [70] Chang B, Svoboda K, Liu X. Cell polarization: From epithelial cells to odontoblasts. *European Journal of Cell Biology* 2018.
- [71] Chevallay B, Herbage D. Collagen-based biomaterials as 3D scaffold for cell cultures: Applications for tissue engineering and gene therapy. *Medical & Biological Engineering & Computing* 2000;38:211–218.
- [72] Kim W, Vacanti J, Cima L, et al. Cartilage Engineered in Predetermined Shapes Employing Cell Transplantation on Synthetic Biodegradable Polymers. *Plastic And Reconstructive Surgery* 1994;94:233–237.
- [73] Honda MJ, Yada T, Ueda M, et al. Cartilage formation by serial passaged cultured chondrocytes in a new scaffold: Hybrid 75:25 poly(l-lactide-ε-caprolactone) sponge. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2004;62:1510–1516.
- [74] Sittinger M, Reitzel D, Dauner M, et al. Resorbable polyesters in cartilage engineering: Affinity and biocompatibility of polymer fiber structures to chondrocytes. *Journal of Biomedical Materials Research* 1996;33:57–63.

- [75] Bencherif SA, Braschler TM, Renaud P. Advances in the design of macroporous polymer scaffolds for potential applications in dentistry. *J Periodontal Implant Sci* 2013;43:251–261.
- [76] Sumita Y, Honda MJ, Ohara T, et al. Performance of collagen sponge as a 3-D scaffold for tooth-tissue engineering. *Biomaterials* 2006;27:3238–3248.
- [77] Prescott RS, Alsanea R, Fayad MI, et al. In Vivo Generation of Dental Pulp-like Tissue by Using Dental Pulp Stem Cells, a Collagen Scaffold, and Dentin Matrix Protein 1 after Subcutaneous Transplantation in Mice. *Journal of Endodontics* 2008;34:421–426.
- [78] Honda MJ, Tsuchiya S, Sumita Y, et al. The sequential seeding of epithelial and mesenchymal cells for tissue-engineered tooth regeneration. *Biomaterials* 2007;28:680–689.
- [79] O’Brien FJ. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today* 2011;14:88–95.
- [80] Di Martino A, Sittinger M, Risbud MV. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials* 2005;26:5983–5990.
- [81] Seol Y-J, Lee J-Y, Park Y-J, et al. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. *Biotechnol Lett* 2004;26:1037–1041.
- [82] Ravindran S, Song Y, George A. Development of Three-Dimensional Biomimetic Scaffold to Study Epithelial–Mesenchymal Interactions. *Tissue Engineering Part A* 2009;16:327–342.
- [83] Li F, Liu X, Zhao S, et al. Porous chitosan bilayer membrane containing TGF- β 1 loaded microspheres for pulp capping and reparative dentin formation in a dog model. *Dental Materials* 2014;30:172–181.
- [84] Altman GH, Diaz F, Jakuba C, et al. Silk-based biomaterials. *Biomaterials* 2003;24:401–416.
- [85] Kim HJ, Kim U-J, Kim HS, et al. Bone Tissue Engineering with Premineralized Silk Scaffolds. *Bone* 2008;42:1226–1234.
- [86] Hofmann S, Hagenmüller H, Koch AM, et al. Control of in vitro tissue-engineered bone-like structures using human mesenchymal stem cells and porous silk scaffolds. *Biomaterials* 2007;28:1152–1162.
- [87] Xu W-P, Zhang W, Asrican R, et al. Accurately Shaped Tooth Bud Cell–Derived Mineralized Tissue Formation on Silk Scaffolds. *Tissue Engineering Part A* 2008;14:549–557.
- [88] Kuo CK, Ma PX. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials* 2001;22:511–521.

- [89] Moshaverinia A, Chen C, Akiyama K, et al. Alginate hydrogel as a promising scaffold for dental-derived stem cells: an in vitro study. *J Mater Sci Mater Med* 2012;23:3041–3051.
- [90] Dobie K, Smith G, Sloan AJ, et al. Effects of alginate hydrogels and TGF-beta 1 on human dental pulp repair in vitro. *Connect Tissue Res* 2002;43:387–390.
- [91] Kanafi MM, Ramesh A, Gupta PK, et al. Dental pulp stem cells immobilized in alginate microspheres for applications in bone tissue engineering. *International Endodontic Journal* 2014;47:687–697.
- [92] Collins MN, Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. *Carbohydrate Polymers* 2013;92:1262–1279.
- [93] Inuyama Y, Kitamura C, Nishihara T, et al. Effects of hyaluronic acid sponge as a scaffold on odontoblastic cell line and amputated dental pulp. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2010;92B:120–128.
- [94] Zhang S, Gelain F, Zhao X. Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for 3D tissue cell cultures. *Semin Cancer Biol* 2005;15:413–420.
- [95] Galler KM, Cavender A, Yuwono V, et al. Self-Assembling Peptide Amphiphile Nanofibers as a Scaffold for Dental Stem Cells. *Tissue Engineering Part A* 2008;14:2051–2058.
- [96] Place ES, George JH, Williams CK, et al. Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering. *Chem Soc Rev* 2009;38:1139.
- [97] Mooney DJ, Powell C, Piana J, et al. Engineering Dental Pulp-like Tissue in Vitro. *Biotechnology Progress* 1996;12:865–868.
- [98] Bohl KS, Shon J, Rutherford B, et al. Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 1998;9:749–764.
- [99] Honda MJ, Sumita Y, Kagami H, et al. Histological and immunohistochemical studies of tissue engineered odontogenesis. *Arch Histol Cytol* 2005;68:89–101.
- [100] Honda MJ, Ohara T, Sumita Y, et al. Preliminary study of tissue-engineered odontogenesis in the canine jaw. *J Oral Maxillofac Surg* 2006;64:283–289.
- [101] Iwatsuki S, Honda MJ, Harada H, et al. Cell proliferation in teeth reconstructed from dispersed cells of embryonic tooth germs in a three-dimensional scaffold. *European Journal of Oral Sciences* 2006;114:310–317.
- [102] Young CS, Terada S, Vacanti JP, et al. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *J Dent Res* 2002;81:695–700.
- [103] van Manen EHC, Zhang W, Walboomers XF, et al. The influence of electrospun fibre scaffold orientation and nano-hydroxyapatite content on the development of tooth bud stem cells in vitro. *Odontology* 2014;102:14–21.

- [104] Hayakawa S, Li Y, Tsuru K, et al. Preparation of nanometer-scale rod array of hydroxyapatite crystal. *Acta Biomaterialia* 2009;5:2152–2160.
- [105] Yoshikawa M, Tsuji N, Shimomura Y, et al. Effects of Laminin For Osteogenesis in Porous Hydroxyapatite. *Macromolecular Symposia* 2007;253:172–178.
- [106] Mastrangelo F, Nargi E, Carone L, et al. Tridimensional Response of human Dental Follicular Stem Cells onto a Synthetic Hydroxyapatite Scaffold. *Journal of Health Science* 2008;54:154–161.
- [107] Ando Y, Honda MJ, Ohshima H, et al. The induction of dentin bridge-like structures by constructs of subcultured dental pulp-derived cells and porous HA/TCP in porcine teeth. *Nagoya J Med Sci* 2009;71:51–62.
- [108] Deng X, Xu M, Li D, et al. Electrospun PLLA/MWNTs/HA Hybrid Nanofiber Scaffolds and Their Potential in Dental Tissue Engineering. *Key Eng Mat* 2007;330–332:393–396.
- [109] Kim J-J, Bae W-J, Kim J-M, et al. Mineralized polycaprolactone nanofibrous matrix for odontogenesis of human dental pulp cells. *J Biomater Appl* 2014;28:1069–1078.
- [110] Yang X, Yang F, Walboomers XF, et al. The performance of dental pulp stem cells on nanofibrous PCL/gelatin/nHA scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2010;93A:247–257.
- [111] Saygin NE, Tokiyasu Y, Giannobile WV, et al. Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts. *J Periodontol* 2000;71:1591–1600.
- [112] Ripamonti U, Herbst N-N, Ramoshebi LN. Bone morphogenetic proteins in craniofacial and periodontal tissue engineering: Experimental studies in the non-human primate *Papio ursinus*. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2005;16:357–368.
- [113] Thesleff I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Sci* 2003;116:1647–1648.
- [114] Wieman TJ, Smiell JM, Su Y. Efficacy and Safety of a Topical Gel Formulation of Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor-BB (Becaplermin) in Patients With Chronic Neuropathic Diabetic Ulcers: A phase III randomized placebo-controlled double-blind study. *Diabetes Care* 1998;21:822–827.
- [115] Alvarez RH, Kantarjian HM, Cortes JE. Biology of Platelet-Derived Growth Factor and Its Involvement in Disease. *Mayo Clinic Proceedings* 2006;81:1241–1257.
- [116] Xu X, Bringas P, Soriano P, et al. PDGFR- α signaling is critical for tooth cusp and palate morphogenesis. *Developmental Dynamics* 2005;232:75–84.
- [117] Lin Z, Sugai JV, Jin Q, et al. Platelet-derived growth factor-B gene delivery sustains gingival fibroblast signal transduction. *Journal of Periodontal Research* 2008;43:440–449.

- [118] Lynch SE, Wisner-Lynch L, Nevins M, et al. A new era in periodontal and periimplant regeneration: use of growth-factor enhanced matrices incorporating rhPDGF. *Compend Contin Educ Dent* 2006;27:672–678; quiz 679–680.
- [119] Anusaksathien O, Jin Q, Zhao M, et al. Effect of Sustained Gene Delivery of Platelet-Derived Growth Factor or Its Antagonist (PDGF-1308) on Tissue-Engineered Cementum. *Journal of Periodontology* 2004;75:429–440.
- [120] Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2005;16:369–376.
- [121] Rutherford RB, Wahle J, Tucker M, et al. Induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic Protein-1. *Archives of Oral Biology* 1993;38:571–576.
- [122] Aberg T, Wozney J, Thesleff I. Expression patterns of bone morphogenetic proteins (Bmps) in the developing mouse tooth suggest roles in morphogenesis and cell differentiation. *Dev Dyn* 1997;210:383–396.
- [123] Heikinheimo K. Stage-specific Expression of Decapentaplegic-Vg-related Genes 2, 4, and 6 (Bone Morphogenetic Proteins 2, 4, and 6) During Human Tooth Morphogenesis. *J Dent Res* 1994;73:590–597.
- [124] Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, et al. Dentin-derived BMP-2 and Odontoblast Differentiation. *J Dent Res* 2010;89:603–608.
- [125] Sebald W, Nickel J, Zhang J-L, et al. Molecular recognition in bone morphogenetic protein (BMP)/receptor interaction. *Biol Chem* 2004;385:697–710.
- [126] Ozeki N, Mogi M, Kawai R, et al. Mouse-Induced Pluripotent Stem Cells Differentiate into Odontoblast-Like Cells with Induction of Altered Adhesive and Migratory Phenotype of Integrin. *PLOS ONE* 2013;8:e80026.
- [127] Ahn YH, Kim TH, Choi H, et al. Disruption of *Tgfbr2* in Odontoblasts Leads to Aberrant Pulp Calcification. *J Dent Res* 2015;94:828–835.
- [128] Sloan AJ, Perry H, Matthews JB, et al. Transforming growth factor-beta isoform expression in mature human healthy and carious molar teeth. *Histochem J* 2000;32:247–252.
- [129] Li Y, Lü X, Sun X, et al. Odontoblast-like cell differentiation and dentin formation induced with TGF- β 1. *Archives of Oral Biology* 2011;56:1221–1229.
- [130] Joseph BK, Savage NW, Young WG, et al. Expression and Regulation of Insulin-Like Growth Factor-I in the Rat Incisor. *Growth Factors* 1993;8:267–275.
- [131] Kim SG, Zhou J, Solomon C, et al. Effects of Growth Factors on Dental Stem/Progenitor Cells. *Dental Clinics of North America* 2012;56:563–575.

- [132] Lv T, Wu Y, Mu C, et al. Insulin-like growth factor 1 promotes the proliferation and committed differentiation of human dental pulp stem cells through MAPK pathways. *Archives of Oral Biology* 2016;72:116–123.
- [133] Onishi T, Kinoshita S, Shintani S, et al. Stimulation of proliferation and differentiation of dog dental pulp cells in serum-free culture medium by insulin-like growth factor. *Archives of Oral Biology* 1999;44:361–371.
- [134] Wang S, Mu J, Fan Z, et al. Insulin-like growth factor 1 can promote the osteogenic differentiation and osteogenesis of stem cells from apical papilla. *Stem Cell Research* 2012;8:346–356.
- [135] Lumsden AG. Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Development* 1988;103 Suppl:155–169.
- [136] Jussila M, Thesleff I. Signaling Networks Regulating Tooth Organogenesis and Regeneration, and the Specification of Dental Mesenchymal and Epithelial Cell Lineages. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012;4:a008425.
- [137] Balic A, Thesleff I. Chapter Seven - Tissue Interactions Regulating Tooth Development and Renewal. In: Chai Y, ed. *Current Topics in Developmental Biology*, vol. 115, Academic Press, 2015:157–186.
- [138] Gulabivala K, Ng Y-L. Tooth organogenesis, morphology and physiology. In: Gulabivala K, Ng Y-L, eds. *Endodontics (Fourth Edition)*, Mosby, 2014:4.
- [139] Huang X-F, Chai Y. Molecular regulatory mechanism of tooth root development. *Int J Oral Sci* 2012;4:177–181.
- [140] Lee J-H, Lee D-S, Nam H, et al. Dental follicle cells and cementoblasts induce apoptosis of ameloblast-lineage and Hertwig's epithelial root sheath/epithelial rests of Malassez cells through the Fas-Fas ligand pathway. *Eur J Oral Sci* 2012;120:29–37.
- [141] Kollar EJ, Baird GR. The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs. *J Embryol Exp Morphol* 1969;21:131–148.
- [142] Oshima M, Mizuno M, Imamura A, et al. Functional tooth regeneration using a bioengineered tooth unit as a mature organ replacement regenerative therapy. *PLoS ONE* 2011;6:e21531.
- [143] Ikeda E, Morita R, Nakao K, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:13475–13480.
- [144] Oshima M, Tsuji T. Whole Tooth Regeneration as a Future Dental Treatment. In: Bertassoni LE, Coelho PG, eds. *Engineering Mineralized and Load Bearing Tissues*, vol. 881, Cham: Springer International Publishing, 2015:255–269.
- [145] Young CS, Kim S-W, Qin C, et al. Developmental analysis and computer modelling of bioengineered teeth. *Archives of Oral Biology* 2005;50:259–265.

- [146] Honda MJ, Shinohara Y, Sumita Y, et al. Shear stress facilitates tissue-engineered odontogenesis. *Bone* 2006;39:125–133.
- [147] Honda M, Morikawa N, Hata K, et al. Rat costochondral cell characteristics on poly (l-lactide-co-ε-caprolactone) scaffolds. *Biomaterials* 2003;24:3511–3519.
- [148] Yelick PC, Vacanti JP. Bioengineered teeth from tooth bud cells. *Dent Clin North Am* 2006;50:191–203, viii.
- [149] Nakao K, Morita R, Saji Y, et al. The development of a bioengineered organ germ method. *Nat Methods* 2007;4:227–230.
- [150] Zheng Y, Du X, Wang W, et al. Organogenesis From Dissociated Cells: Generation of Mature Cycling Hair Follicles From Skin-Derived Cells. *Journal of Investigative Dermatology* 2005;124:867–876.
- [151] Shackleton M, Vaillant F, Simpson KJ, et al. Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature* 2006;439:84–88.
- [152] Yamamoto H, Kim E-J, Cho S-W, et al. Analysis of tooth formation by reaggregated dental mesenchyme from mouse embryo. *J Electron Microsc (Tokyo)* 2003;52:559–566.
- [153] Hu B, Nadiri A, Kuchler-Bopp S, et al. Tissue Engineering of Tooth Crown, Root, and Periodontium. *Tissue Engineering* 2006;12:2069–2075.
- [154] Ohazama A, Modino S a. C, Miletich I, et al. Stem-cell-based tissue engineering of murine teeth. *J Dent Res* 2004;83:518–522.
- [155] Volponi A, Kawasaki M, Sharpe PT. Adult human gingival epithelial cells as a source for whole-tooth bioengineering. *J Dent Res* 2013;92:329–334.
- [156] Ono M, Oshima M, Ogawa M, et al. Practical whole-tooth restoration utilizing autologous bioengineered tooth germ transplantation in a postnatal canine model. *Scientific Reports* 2017;7:44522.
- [157] Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, et al. Bioengineered Teeth from Cultured Rat Tooth Bud Cells. *J Dent Res* 2004;83:523–528.
- [158] Duailibi SE, Duailibi MT, Zhang W, et al. Bioengineered Dental Tissues Grown in the Rat Jaw. *J Dent Res* 2008;87:745–750.
- [159] Oshima M, Ogawa M, Tsuji T. Regeneration of complex oral organs using 3D cell organization technology. *Curr Opin Cell Biol* 2017;49:84–90.
- [160] Takeo M, Tsuji T. Organ regeneration based on developmental biology: past and future. *Curr Opin Genet Dev* 2018;52:42–47.
- [161] Yang L, Angelova Volponi A, Pang Y, et al. Mesenchymal Cell Community Effect in Whole Tooth Bioengineering. *J Dent Res* 2017;96:186–191.

- [162] Avery J, Steele P. Oral development and histology. Thiemes 2001:225–242.
- [163] Yan X, Qin H, Qu C, et al. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. *Stem Cells Dev* 2010;19:469–480.
- [164] Arakaki M, Ishikawa M, Nakamura T, et al. Role of epithelial-stem cell interactions during dental cell differentiation. *J Biol Chem* 2012;287:10590–10601.
- [165] Otsu K, Kishigami R, Oikawa-Sasaki A, et al. Differentiation of induced pluripotent stem cells into dental mesenchymal cells. *Stem Cells Dev* 2012;21:1156–1164.

Thèse d'exercice : Chir. Dent. : Lille : Année 2020 – N°:

Cellules souches d'origine dentaire et ingénierie tissulaire : peut-on recréer un organe dentaire ? / **KHODAVEISI MOTLAGH Aryaman.**- p. 77 : ill. 12 ; réf. 165.

Domaines : Sciences fondamentales

Mots clés Rameau: Dents ; Cellules souches ; Génie tissulaire ; Structures d'échafaudage tissulaires, Biobanques ;

Mots clés FMeSH: Dent ; Cellules souches ; Ingénierie tissulaire ; Régénération tissulaire guidée ; Biobanques ;

Résumé de la thèse :

Bien que les prothèses dentaires fixes et amovibles aient été et sont toujours le traitement de référence de remplacement des dents, les complications associées ont révélé la nécessité de chercher à innover et apporter de nouvelles solutions pour remplacer les dents manquantes.

La découverte des cellules souches d'origine dentaire a donné aux chercheurs l'espoir de recréer un organe dentaire complet.

Le but de cette thèse est de donner l'avancée des études sur la régénération d'organes dentaires à partir de ces cellules.

JURY :

Président : Dr Thomas COLARD

Asseseurs :

Dr Jérôme VANDOMME

Dr Cécile OLEJNIK

Dr William PACQUET